

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

NOTIFICATION D'ELECTION
(règle 61.2 du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

Assistant Commissioner for Patents
United States Patent and Trademark
Office
Box PCT
Washington, D.C.20231
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

en sa qualité d'office élu

Date d'expédition (jour/mois/année) 04 avril 2000 (04.04.00)	Référence du dossier du déposant ou du mandataire P.UCL.64/WO
Demande internationale no PCT/BE99/00112	Date de priorité (jour/mois/année) 17 août 1998 (17.08.98)
Date du dépôt international (jour/mois/année) 17 août 1999 (17.08.99)	
Déposant ROUSSEAU, Guy etc	

1. L'office désigné est avisé de son élection qui a été faite:



dans la demande d'examen préliminaire international présentée à l'administration chargée de l'examen préliminaire international le:

02 mars 2000 (02.03.00)



dans une déclaration visant une élection ultérieure déposée auprès du Bureau international le:

2. L'élection



a été faite



n'a pas été faite

avant l'expiration d'un délai de 19 mois à compter de la date de priorité ou, lorsque la règle 32 s'applique, dans le délai visé à la règle 32.2b).

Bureau international de l'OMPI
34, chemin des Colombettes
1211 Genève 20, Suisse
no de télécopieur: (41-22) 740.14.35
no de téléphone: (41-22) 338.83.38

Formulaire PCT/IB/331 (juillet 1992)

Fonctionnaire autorisé

S. Mafla

3207846

TRAITE D'COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

Expéditeur : L'ADMINISTRATION CHARGÉE DE
L'EXAMEN PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL

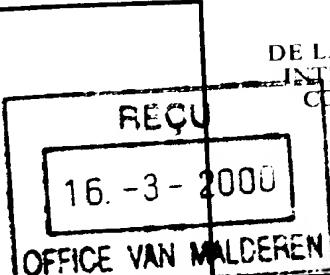
PCT

NOTIFICATION DE LA RÉCEPTION
DE LA DEMANDE D'EXAMEN PRÉLIMINAIRE
INTERNATIONAL PAR L'ADMINISTRATION
COMPÉTANTE CHARGÉE DE L'EXAMEN
PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL

(règles 59.3.e) et 61.1.b), première phrase, et
instruction administrative 601.a) du PCT)

Destinataire

VAN MALDEREN, Eric
OFFICE VAN MALDEREN
Place Reine Fabiola 6/1
B-1083 Bruxelles
BELGIQUE



Date d'expédition
(jour/mois/année)

16. 03. 00

Référence du dossier du déposant ou du mandataire
P.UCL.64/WO

NOTIFICATION IMPORTANTE

Demande internationale n°

PCT/ BE 99/ 00112

Date du dépôt international (jour/mois/année)

17/08/1999

Date de priorité (jour/mois/année)

17/08/1998

Déposant

UNIVERSITE CATHOLIQUE DE LOUVAIN et al.

1. Il est **notifié** au déposant que l'administration chargée de l'examen préliminaire international considère la date suivante comme étant la date de réception de la demande d'examen préliminaire international de la demande internationale:

02/03/2000

2. Cette date de réception est

la date effective de réception de la demande d'examen préliminaire international par l'administration (règle 61.1.b)).

la date effective de réception de la demande d'examen préliminaire international pour le compte de l'administration (règle 59.3.e)).

la date à laquelle l'administration a reçu, en réponse à l'invitation à corriger des irrégularités dans la demande d'examen préliminaire international (formulaire PCT/IPEA/404), les corrections à apporter à cette dernière.

3. **ATTENTION:** Cette date de réception est **POSTÉRIEURE** à l'expiration du délai de 19 mois à compter de la date de priorité. Par conséquent, la ou les élections faites dans la demande d'examen préliminaire international n'ont pas pour effet de différer l'ouverture de la phase nationale à 30 mois (ou plus dans certains offices) à compter de la date de priorité (article 39.1)). Les actes requis pour l'ouverture de la phase nationale doivent donc être accomplis dans un délai de 20 mois (ou plus dans certains offices) à compter de la date de priorité (article 22). Pour plus de précisions, voir le volume II du *Guide du déposant du PCT*.

(*Le cas échéant*) La présente notification confirme les renseignements donnés par téléphone, par télécopie ou lors d'une entrevue le:

4. Dans le cas visé au paragraphe 3, une copie de la présente notification a été envoyée au Bureau international.

Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international

Office Européen des Brevets
D-80298 Munich
Tel. (+ 49-89) 2399-0, Tx: 523656 epmu d
Fax: (- 49-89) 2399-4465

Fonctionnaire autorisé

WERNER N

Tel. (+ 49-89) 2399-2635



TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

AVIS INFORMANT LE DEPOSANT DE LA
COMMUNICATION DE LA DEMANDE
INTERNATIONALE AUX OFFICES DESIGNES

(règle 47.1.c), première phrase, du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:
 VAN MALDEREN, Eric
 Office Van Malderen
 Place Reine Fabiola 6/1
 B-1083 Bruxelles
 BELGIQUE

Date d'expédition (jour/mois/année) 02 mars 2000 (02.03.00)		AVIS IMPORTANT	
Référence du dossier du déposant ou du mandataire P.UCL.64/WO			
Demande internationale no PCT/BE99/00112	Date du dépôt international (jour/mois/année) 17 août 1999 (17.08.99)	Date de priorité (jour/mois/année) 17 août 1998 (17.08.98)	
Déposant UNIVERSITE CATHOLIQUE DE LOUVAIN etc			

1. Il est notifié par la présente qu'à la date indiquée ci-dessus comme date d'expédition de cet avis, le Bureau international a communiqué, comme le prévoit l'article 20, la demande internationale aux offices désignés suivants:
EP,JP,US

Conformément à la règle 47.1.c), troisième phrase, ces offices acceptent le présent avis comme preuve déterminante du fait que la communication de la demande internationale a bien eu lieu à la date d'expédition indiquée plus haut, et le déposant n'est pas tenu de remettre de copie de la demande internationale à l'office ou aux offices désignés.

2. Les offices désignés suivants ont renoncé à l'exigence selon laquelle cette communication doit être effectuée à cette date:
CA

La communication sera effectuée seulement sur demande de ces offices. De plus, le déposant n'est pas tenu de remettre de copie de la demande internationale aux offices en question (règle 49.1)a-bis).

3. Le présent avis est accompagné d'une copie de la demande internationale publiée par le Bureau international le 02 mars 2000 (02.03.00) sous le numéro WO 00/11159

RAPPEL CONCERNANT LE CHAPITRE II (article 31.2)a) et règle 54.2)

Si le déposant souhaite reporter l'ouverture de la phase nationale jusqu'à 30 mois (ou plus pour ce qui concerne certains offices) à compter de la date de priorité, la demande d'examen préliminaire international doit être présentée à l'administration compétente chargée de l'examen préliminaire international avant l'expiration d'un délai de 19 mois à compter de la date de priorité.

Il appartient exclusivement au déposant de veiller au respect du délai de 19 mois.

Il est à noter que seul un déposant qui est ressortissant d'un Etat contractant du PCT lié par le chapitre II ou qui y a son domicile peut présenter une demande d'examen préliminaire international.

RAPPEL CONCERNANT L'OUVERTURE DE LA PHASE NATIONALE (article 22 ou 39.1))

Si le déposant souhaite que la demande internationale procède en phase nationale, il doit, dans le délai de 20 mois ou de 30 mois, ou plus pour ce qui concerne certains offices, accomplir les actes mentionnés dans ces dispositions auprès de chaque office désigné ou élu.

Pour d'autres informations importantes concernant les délais et les actes à accomplir pour l'ouverture de la phase nationale, voir l'annexe du formulaire PCT/IB/301 (Notification de la réception de l'exemplaire original) et le volume II du Guide du déposant du PCT.

Bureau international de l'OMPI 34, chemin des Colombettes 1211 Genève 20, Suisse no de télecopieur (41-22) 740.14.35	Fonctionnaire autorisé J. Zahra no de téléphone (41-22) 338.83.38
---	---

3127072

Suite du formulaire PCT/IB/308

AVIS INFORMANT LE DEPOSANT DE LA COMMUNICATION DE
LA DEMANDE INTERNATIONALE AUX OFFICES DESIGNES

Date d'expédition (jour/mois/année) 02 mars 2000 (02.03.00)	AVIS IMPORTANT
Référence du dossier du déposant ou du mandataire P.UCL.64/WO	Demande internationale no PCT/BE99/00112
<p>Il est notifié au déposant que, au moment de l'établissement du présent avis, le délai fixé à la règle 46.1 pour le dépôt de modifications selon l'article 19 n'était pas encore expiré et que le Bureau international n'avait pas reçu de modifications ni de déclaration l'informant que le déposant ne souhaitait pas présenter de modifications.</p>	
3127072	

REQUETE PCT

Original (pour PRESENTATION) - imprimé le 17.08.1999 08:44:47 AM

0 0-1	Réserve à l'office récepteur Demande internationale No.	<i>DUPPLICATA</i>
0-2	Date du dépôt international	
0-3	Nom de l'office récepteur et "Demande internationale PCT"	
0-4 0-4-1	Formulaire - PCT/RO/101 Requête PCT Préparé avec la version:	PCT-EASY Version 2.84 (mis à jour 01.06.1999)
0-5	Pétition Le soussigné requiert que la présente demande internationale soit traitée conformément au Traité de coopération en matière de brevets	
0-6	Office récepteur (choisi par le déposant)	Office de la propriété industrielle (Belgique) (RO/BE)
0-7	Référence du dossier du déposant ou du mandataire	P.UCL.64/WO
I	Titre de l'invention	COMPOSITION PHARMACEUTIQUE DESTINEE AU TRAITEMENT OU A LA PREVENTION DU DIABETE OU DU CANCER
II	Déposant Cette personne est :	Déposant seulement
II-1	Déposant pour	Tous les Etats désignés sauf US
II-4	Nom	UNIVERSITE CATHOLIQUE DE LOUVAIN
II-5	Adresse:	Halles Universitaires Place de l'Université, 1 B-1348 LOUVAIN-LA-NEUVE Belgique
II-6	Nationalité (nom de l'Etat)	BE
II-7	Résidence (nom de l'Etat)	BE
III-1	Déposant et/ou inventeur Cette personne est :	Déposant et inventeur
III-1-1	Déposant pour	US seulement
III-1-2	Nom (NOM DE FAMILLE, Prénom)	ROUSSEAU, Guy
III-1-4	Adresse:	Avenue de la Chapelle, 21 B-1200 BRUXELLES
III-1-5	Nationalité (nom de l'Etat)	Belgique
III-1-6	Résidence (nom de l'Etat)	BE
III-1-7		BE

REQUETE PCT

Original (pour PRESENTATION) - imprimé le 17.08.1999 08:44:47 AM

0-1	Réservé à l'office récepteur Demande internationale No.	
0-2	Date du dépôt international	
0-3	Nom de l'office récepteur et "Demande internationale PCT"	
0-4 0-4-1	Formulaire - PCT/RO/101 Requête PCT Préparé avec la version:	PCT-EASY Version 2.84 (mis à jour 01.06.1999)
0-5	Pétition Le soussigne requiert que la présente demande internationale soit traitée conformément au Traité de coopération en matière de brevets	
0-6	Office récepteur (choisi par le déposant)	Office de la propriété industrielle (Belgique) (RO/BE)
0-7	Référence du dossier du déposant ou du mandataire	P.UCL.64/WO
I	Titre de l'invention	COMPOSITION PHARMACEUTIQUE DESTINEE AU TRAITEMENT OU A LA PREVENTION DU DIABETE OU DU CANCER
II II-1 II-2 II-4 II-5 II-6 II-7	Déposant Cette personne est : Déposant pour Nom Adresse: Nationalité (nom de l'Etat) Résidence (nom de l'Etat)	Déposant seulement Tous les Etats désignés sauf US UNIVERSITE CATHOLIQUE DE LOUVAIN Halles Universitaires Place de l'Université, 1 B-1348 LOUVAIN-LA-NEUVE Belgique BE BE
III-1 III-1-1 III-1-2 III-1-4 III-1-5 III-1-6 III-1-7	Déposant et/ou inventeur Cette personne est : Déposant pour Nom (NOM DE FAMILLE, Prénom) Adresse: Nationalité (nom de l'Etat) Résidence (nom de l'Etat)	Déposant et inventeur US seulement ROUSSEAU, Guy Avenue de la Chapelle, 21 B-1200 BRUXELLES Belgique BE BE

REQUETE PCT

Original (pour PRESENTATION) - imprimé le 17.08.1999 08:44:47 AM

III-2	Déposant et/ou inventeur Cette personne est :	Déposant et inventeur US seulement LEMAIGRE, Frédéric Nom (NOM DE FAMILLE, Prénom) Avenue de l'Ange, 30 B-1410 WATERLOO Belgique
III-2-1		
III-2-2	Déposant pour	
III-2-4	Nom (NOM DE FAMILLE, Prénom)	
III-2-5	Adresse:	
III-2-6	Nationalité (nom de l'Etat)	BE
III-2-7	Résidence (nom de l'Etat)	BE
IV-1	Mandataire ; Représentant commun ou adresse pour la correspondance. La personne nommée ci-dessous est/a été désignée pour agir au nom du ou des déposants auprès des autorités internationales compétentes, comme	mandataire
IV-1-1	Nom (NOM DE FAMILLE, Prénom)	VAN MALDEREN, Eric
IV-1-2	Adresse:	OFFICE VAN MALDEREN Place Reine Fabiola, 6/1 B-1083 BRUXELLES Belgique
IV-1-3	No. de téléphone	+32 2 426 38 10
IV-1-4	No de télécopieur:	+32 2 426 37 60
IV-1-5	Courrier électronique:	malderen.patent@skynet.be
IV-2	Mandataire(s) supplémentaire(s)	Mandataires supplémentaires ayant la même adresse que le mandataire nommé en premier
IV-2-1	Nom(s)	VAN MALDEREN, Michel; VAN MALDEREN, Joëlle
V	Désignation d'Etats	
V-1	Brevet régional (d'autres formes de protection ou de traitement, le cas échéant, sont spécifiées entre parenthèses pour les Etats désignés concernés)	EP: AT BE CH&LI CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LU MC NL PT SE et tout autre Etat qui est un Etat contractant de la Convention sur le brevet européen et du PCT
V-2	Brevet national (d'autres formes de protection ou de traitement, le cas échéant, sont spécifiées entre parenthèses pour les Etats désignés concernés)	CA JP US

REQUETE PCT

Original (pour PRESENTATION) - imprimé le 17.08.1999 08:44:47 AM

V-5	Déclaration concernant les désignations de précaution Outre les désignations faites sous les rubriques V-1, V-2 et V-3, le déposant fait aussi, conformément à la règle 4.9.b), toutes les désignations qui seraient autorisées en vertu du PCT, à l'exception de toute désignation(s) indiquée(s) dans la rubrique V-6 ci-dessous. Le déposant déclare que ces désignations additionnelles sont faites sous réserve de confirmation et que toute désignation qui n'est pas confirmée avant l'expiration d'un délai de 15 mois à compter de la date de priorité sera considérée comme retirée par le déposant à l'expiration de ce délai.	
V-6	Exclusion(s) des désignations de précaution	NEANT
VI-1	Revendication de priorité d'une demande nationale antérieure	
VI-1-1	Date du dépôt	17 août 1998 (17.08.1998)
VI-1-2	Numéro	098 00609
VI-1-3	Pays	BE
VI-2	Requête pour le document de priorité L'office récepteur est prié de préparer et de transmettre au Bureau international une copie certifiée conforme de la ou des demandes antérieures mentionnées ci-dessus sous la/les rubriques:	VI-1
VII-1	Administration chargée de la recherche internationale choisie	Office européen des brevets (OEB) (ISA/EP)
VII-2	Demande d'utilisation des résultats d'une recherche antérieure; mention de cette recherche	
VII-2-1	Date	18 mai 1999 (18.05.1999)
VII-2-2	Numéro	BE 9800609
VII-2-3	Pays (ou office régional)	EP
VIII	Bordereau	Nombre de feuillets
VIII-1	Requête	4
VIII-2	Description (sauf partie réservée au listage des séquences)	18
VIII-3	Revendications	2
VIII-4	Abrégé	1
VIII-5	Dessins	1
VIII-6	Partie de la description réservée au listage des séquences	9
VIII-7	TOTAL	35
VIII-8	Eléments joints	Document(s) papier joint(s)
VIII-15	Feuille de calcul des taxes	✓
VIII-15	Listage des séquences de nucléotides ou d'acides aminés sous forme déchiffrable par ordinateur	disquette distincte
VIII-16	Disquette PCT-EASY	disquette
VIII-17	Autre (preciser):	Rapport de recherche

REQUETE PCT

Original (pour PRESENTATION) - imprimé le 17.08.1999 08:44:47 AM

VIII-18	Figure des dessins qui doit accompagner l'abrégué	1
VIII-19	Langue de dépôt de la demande internationale	français
IX-1	Signature du déposant ou du mandataire	
IX-1-1	Nom (NOM DE FAMILLE, Prénom)	VAN MALDEREN, Eric

RESERVE A L'OFFICE RECEPTEUR

10-1	Date effective de réception des pièces supposées constituer la demande internationale	
10-2	Dessins: 10-2-1 Reçus 10-2-2 non reçus	
10-3	Date effective de réception, rectifiée en raison de la réception ultérieure, mais dans les délais, de documents ou de dessins complétant ce qui est supposé constituer la demande internationale:	
10-4	Date de réception, dans les délais, des corrections demandées selon l'article 11.2) du PCT	
10-5	Administration chargée de la recherche internationale	ISA/EP
10-6	Transmission de la copie de recherche différée jusqu'au paiement de la taxe de recherche	

RESERVE AU BUREAU INTERNATIONAL

11-1	Date de réception de l'exemplaire original par le Bureau international	
------	--	--

La demande d'examen préliminaire international doit être présentée directement à l'administration chargée de l'examen préliminaire international dans le pays étranger où l'administration compétente a fait sa première déclaration au dépôt de la demande internationale et non pas à l'administration du pays de la demande internationale par les lettres de cette administration au dessus de la ligne qui suit :

IPEA

PCT

CHAPITRE II

DEMANDE D'EXAMEN PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL

selon l'article 31 du Traité de coopération en matière de brevets :

Le soussigne requiert que la demande internationale spécifiée ci-après fasse l'objet d'un examen préliminaire international conformément au Traité de coopération en matière de brevets et fait élection de tous les Etats éligibles sauf indication contraire.

Réserve à l'administration chargée de l'examen préliminaire international

Administration chargée de l'examen préliminaire international Date de réception de la demande d'examen préliminaire international

Cadre n° I IDENTIFICATION DE LA DEMANDE INTERNATIONALE		Référence du dossier du déposant ou du mandataire
Demande internationale n PCT/BE99/00112	Date du dépôt international (jour mois année) 17 août 1999 (17.08/99)	Date de priorité (la plus ancienne) (jour mois année) 17 août 1998 (17.08.98)
Titre de l'invention COMPOSITION PHARMACEUTIQUE DESTINEE AU TRAITEMENT OU A LA PREVENTION DU DIABETE, DU CANCER OU DU SYNDROME DE WAARDENBURG		
Cadre n° II DÉPOSANT(S)		
Nom et adresse : (Nom de famille suivi du prénom) pour une personne morale, désignation officielle complète. L'adresse doit comprendre le code postal et le nom du pays. UNIVERSITE CATHOLIQUE DE LOUVAIN Halles Universitaires Place de l'Université, 1 B-1348 LOUVAIN-LA-NEUVE BELGIQUE	n° de téléphone	
	n° de télécopieur	
	n° de télimprimante	
Nationalité (nom de l'Etat) : BE	Domicile (nom de l'Etat) : BE	
Nom et adresse : (Nom de famille suivi du prénom) pour une personne morale, désignation officielle complète. L'adresse doit comprendre le code postal et le nom du pays. ROUSSEAU Guy Avenue de la Chapelle, 21 B-1200 BRUXELLES BELGIQUE		
Nationalité (nom de l'Etat) : BE	Domicile (nom de l'Etat) : BE	
Nom et adresse : (Nom de famille suivi du prénom) pour une personne morale, désignation officielle complète. L'adresse doit comprendre le code postal et le nom du pays. LEMAIGRE Frédéric Avenue de l'Ange, 30 B-1410 WATERLOO BELGIQUE		

Nationalité (nom de l'Etat) :
BE

Domicile (nom de l'Etat) :
BE

M. _____, dépose son dépôt directement au dépôt de l'Etat étranger.

Il déclare que l'Etat étranger auquel il dépose son dépôt a accepté l'application de l'Article 31 du Traité de coopération en matière de brevets.

Cadre n° III - MANDATAIRE OU REPRÉSENTANT COMMUN: OU ADRESSE POUR LA CORRESPONDANCE

Cadre n° III - MANDATAIRES

La personne indiquée ci-dessous est mandataire représentant commun et a été désignée à une date antérieure, elle représente aussi le ou les déposants pour l'examen préliminaire international. est désignée par la présente, toute désignation antérieure, le mandataire ou d'un représentant commun est de ce fait révoquée. est désignée par la présente, spécialement pour la procédure devant l'administration chargée de l'examen préliminaire international, en sus du ou des mandataires ou du représentant commun désignés antérieurement.

Nom et adresse : nom de la famille, nom du prenom, prénom d'une personne mondiale, désignation officielle, n° de téléphone

à la réception

en de teleimprimeur

Adresse pour la correspondance : cocher cette case lorsque aucun mandataire ni représentant commun n'est ou n'a été désigné et que l'espace ci-dessus est utilisé pour indiquer une adresse spéciale à laquelle la correspondance doit être envoyée.

IV. BASE DE L'EXAMEN PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL

Réaction concernant les modifications :*

Declaration concernant les modifications

1. Le déposant souhaite que l'examen préliminaire international commence sur la base suivante :

 - la demande internationale telle qu'elle a été déposée initialement
 - la description telle qu'elle a été déposée initialement
 telle qu'elle a été modifiée en vertu de l'article 34
 - les revendications telles qu'elles ont été déposées initialement
 telles qu'elles ont été modifiées en vertu de l'article 19 (avec, le cas échéant, la déclaration jointe aux modifications)
 telles qu'elles ont été modifiées en vertu de l'article 34
 - les dessins tels qu'ils ont été déposés initialement
 tels qu'ils ont été modifiés en vertu de l'article 34

2. Le déposant souhaite que les modifications apportées aux revendications en vertu de l'article 19 soient considérées comme écartées.
3. Le déposant souhaite que le commencement de l'examen préliminaire international soit différé jusqu'à l'expiration d'un délai de 20 mois à compter de la date de priorité, à moins que l'administration chargée de l'examen préliminaire international ne reçoive une copie des modifications effectuées en vertu de l'article 19 ou une déclaration du déposant, aux termes de laquelle celui-ci ne souhaite pas effectuer de modifications en vertu de l'article 19 (règle 69.1.d). (Ne pas cocher cette case lorsque le délai visé à l'article 19 a expiré.)
- * Lorsque aucune case n'est cochée, l'examen préliminaire international commencera sur la base de la demande internationale telle qu'elle a été déposée initialement ou, si l'administration chargée de l'examen préliminaire international reçoit copie des modifications apportées aux revendications en vertu de l'article 19 ou des modifications apportées à la demande internationale en vertu de l'article 34 avant d'avoir commencé à rédiger une opinion écrite ou le rapport d'examen préliminaire international, sur la base de la demande internationale ainsi modifiée

Le examen préliminaire international sera effectué en, qui est

la langue dans laquelle la demande internationale a été déposée.

la langue d'une traduction remise aux fins de la recherche internationale.

la langue de publication de la demande internationale.

la langue de la traduction qui va être remise aux fins de l'examen préliminaire international.

Cadre n°V - ÉLECTION D'ÉTATS

Le déposant élit tous les Etats éligibles à l'exception des Etats ayant été déclarés et autorisés par le Chapitre 10 du Titre I.

Cadre n° VI - BORDEREAU

Aux fins de l'examen préliminaire international, les éléments suivants, établis dans la langue indiquée au cadre n° IV, sont joints à la présente demande d'examen.

1. traduction de la demande internationale	:	feuilles
2. modifications selon l'article 34	:	feuilles
3. copie (ou, si elle est exigée, traduction) des modifications selon l'article 19	:	feuilles
4. copie (ou, si elle est exigée, traduction) de la déclaration selon l'article 19	:	feuilles
5. lettre	:	feuilles
6. autres pièces (<i>préciser</i>)	:	feuilles

Reservé à l'administration chargée de l'examen préliminaire international

	reçu	non reçu
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Le ou les éléments cochés ci-après sont aussi joints à la demande d'examen préliminaire international :

1. <input type="checkbox"/> feuille de calcul des taxes	4. <input checked="" type="checkbox"/> explication de l'absence d'une signature
2. <input type="checkbox"/> pouvoir distinct signé	5. <input type="checkbox"/> listage des séquences de nucléotides ou d'acides aminés sous forme déchiffrable par ordinateur
3. <input type="checkbox"/> copie du pouvoir général: numéro de référence, le cas échéant :	6. <input type="checkbox"/> autres éléments (<i>préciser</i>) :

Cadre n° VII - SIGNATURE DU DÉPOSANT, DU MANDATAIRE OU DU REPRÉSENTANT COMMUN

À côté de chaque signature, indiquer le nom du signataire et, si cela n'apparaît pas clairement à la lecture de la demande d'examen préliminaire international, à quel titre l'intéressé signe.

VAN MALDEREN Eric

Reservé à l'administration chargée de l'examen préliminaire international

1. Date effective de réception de la DEMANDE D'EXAMEN PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL :

2. Date modifiée de réception de la demande d'examen préliminaire international, en cas de CORRECTIONS apportées en vertu de la règle 60.1(b) :

3. La demande d'examen préliminaire international a été reçue PLUS DE 19 mois après la date de priorité et les points 4 et 5 ne sont pas applicables. Le déposant a été informé en conséquence.

4. La demande d'examen préliminaire international a été reçue dans le délai de 19 mois à compter de la date de priorité, prorogé en vertu de la règle 80.5.

5. Bien que la demande d'examen préliminaire international ait été reçue plus de 19 mois après la date de priorité, le retard d'arrivée est EXCLUSE en vertu de la règle 82.

Reservé au Bureau international

Demande d'examen préliminaire international reçue de l'administration chargée de l'examen préliminaire international

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

(article 36 et règle 70 du PCT)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire P.UCL.64/WO	POUR SUITE A DONNER		voir la notification de transmission du rapport d'examen préliminaire international (formulaire PCT/IPEA/416)
Demande internationale n° PCT/BE99/00112	Date du dépôt international (jour/mois/année) 17/08/1999	Date de priorité (jour/mois/année) 17/08/1998	
Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB C12N15/12			
Déposant UNIVERSITE CATHOLIQUE DE LOUVAIN et al.			

1. Le présent rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international, est transmis au déposant conformément à l'article 36.

2. Ce RAPPORT comprend 11 feuillets, y compris la présente feuille de couverture.

Il est accompagné d'ANNEXES, c'est-à-dire de feuillets de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou de feuillets contenant des rectifications faites auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 70.16 et l'instruction 607 des Instructions administratives du PCT).

Ces annexes comprennent 2 feuillets.

3. Le présent rapport contient des indications relatives aux points suivants:

- I Base du rapport
- II Priorité
- III Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle
- IV Absence d'unité de l'invention
- V Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration
- VI Certains documents cités
- VII Irrégularités dans la demande internationale
- VIII Observations relatives à la demande internationale

Data de présentation de la demande d'examen préliminaire internationale 02/03/2000	Date d'achèvement du présent rapport 27.11.2000
Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international: Office européen des brevets D-80298 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Télex: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Fonctionnaire autorisé Steffen. P N° de téléphone +49 89 2399 7307



RAPPORT D'EXAMEN PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL

Demande internationale n° PCT/BE99/00112

I. Base du rapport

1. Ce rapport a été rédigé sur la base des éléments ci-après (les feuilles de remplacement qui ont été remises à l'office récepteur en réponse à une invitation faite conformément à l'article 14 sont considérées dans le présent rapport comme "initialement déposées" et ne sont pas jointes en annexe au rapport puisqu'elles ne contiennent pas de modifications (règles 70.16 et 70.17).):

Description, pages:

1-18 version initiale

Revendications, N°:

Dessins, feuilles:

1/1 version initiale

2. En ce qui concerne la **langue**, tous les éléments indiqués ci-dessus étaient à la disposition de l'administration ou lui ont été remis dans la langue dans laquelle la demande internationale a été déposée, sauf indication contraire donnée sous ce point.

Ces éléments étaient à la disposition de l'administration ou lui ont été remis dans la langue suivante: , qui est :

- la langue d'une traduction remise aux fins de la recherche internationale (selon la règle 23.1(b)).
- la langue de publication de la demande internationale (selon la règle 48.3(b)).
- la langue de la traduction remise aux fins de l'examen préliminaire internationale (selon la règle 55.2 ou 55.3).

3. En ce qui concerne les **séquences de nucléotides ou d'acide aminés** divulguées dans la demande internationale (le cas échéant), l'examen préliminaire internationale a été effectué sur la base du listage des séquences :

- contenu dans la demande internationale, sous forme écrite.
- déposé avec la demande internationale, sous forme déchiffrable par ordinateur.
- remis ultérieurement à l'administration, sous forme écrite.
- remis ultérieurement à l'administration, sous forme déchiffrable par ordinateur.
- La déclaration, selon laquelle le listage des séquences par écrit et fourni ultérieurement ne va pas au-delà de la divulgation faite dans la demande telle que déposée, a été fournie.
- La déclaration, selon laquelle les informations enregistrées sous déchiffrable par ordinateur sont identiques à celles du listages des séquences Présenté par écrit, a été fournie.

4 Les modifications ont entraîné l'annulation :

**RAPPORT D'EXAMEN
PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/BE99/00112

de la description, pages :

des revendications, n°s :

des dessins, feuilles :

5. Le présent rapport a été formulé abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé, comme il est indiqué ci-après (règle 70.2(c)) :

(Toute feuille de remplacement comportant des modifications de cette nature doit être indiquée au point 1 et annexée au présent rapport)

6. Observations complémentaires, le cas échéant :

voir feuille séparée

III. Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle

La question de savoir si l'objet de l'invention revendiquée semble être nouveau, impliquer une activité inventive (ne pas être évident) ou être susceptible d'application industrielle n'a pas été examinée pour ce qui concerne :

l'ensemble de la demande internationale.

les revendications n°s 8 (IA).

parce que :

la demande internationale, ou les revendications n°s 8 (IA) en question, se rapportent à l'objet suivant, à l'égard duquel l'administration chargée de l'examen préliminaire international n'est pas tenue effectuer un examen préliminaire international (*préciser*) :
voir feuille séparée

la description, les revendications ou les dessins (*en indiquer les éléments ci-dessous*), ou les revendications n°s en question ne sont pas clairs, de sorte qu'il n'est pas possible de formuler une opinion valable (*préciser*) :

les revendications, ou les revendications n°s en question, ne se fondent pas de façon adéquate sur la description, de sorte qu'il n'est pas possible de formuler une opinion valable.

il n'a pas été établi de rapport de recherche internationale pour les revendications n°s en question.

2. Le listage des séquences de nucléotides ou d'acides aminés n'est pas conforme à la norme prévue dans l'annexe C des instructions administratives, de sorte qu'il n'est pas possible d'effectuer un examen préliminaire international significatif:

le listage présenté par écrit n'a pas été fourni ou n'est pas conforme à la norme.

RAPPORT D'EXAMEN PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL

Demande internationale n° PCT/BE99/00112

le listage sous forme déchiffrable par ordinateur n'a pas été fourni ou n'est pas conforme à la norme.

IV. Absence d'unité de l'invention

1. En réponse à l'invitation à limiter les revendications ou à payer des taxes additionnelles, le déposant a
 - limité les revendications.
 - payé des taxes additionnelles.
 - payé des taxes additionnelles sous réserve.
 - ni limité les revendications ni payé des taxes additionnelles.
2. L'administration chargée de l'examen préliminaire international estime qu'il n'est pas satisfait à l'exigence d'unité d'invention et décide, conformément à la règle 68.1, de ne pas inviter le déposant à limiter les revendications ou à payer des taxes additionnelles.
3. L'administration chargée de l'examen préliminaire international estime que, aux termes des règles 13.1, 13.2 et 13.3,
 - il est satisfait à l'exigence d'unité de l'invention.
 - il n'est pas satisfait à l'exigence d'unité de l'invention, et ce pour les raisons suivantes :
voir feuille séparée
4. En conséquence, les parties suivantes de la demande internationale ont fait l'objet d'un examen préliminaire international lors de la formulation du présent rapport :
 - toutes les parties de la demande.
 - les parties relatives aux revendications n°s .

V. Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

1. Déclaration

Nouveauté	Oui : Revendications 3,4,7,8 Non : Revendications 1,2,5,6
Activité inventive	Oui : Revendications 3,4 Non : Revendications 1,2,5-8
Possibilité d'application industrielle	Oui : Revendications 1-7 Non : Revendications

2. Citations et explications **voir feuille séparée**

**RAPPORT D'EXAMEN
PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/BE99/00112

VIII. Observations relatives à la demande internationale

Les observations suivantes sont faites au sujet de la clarté des revendications, de la description et des dessins et de la question de savoir si les revendications se fondent entièrement sur la description :
voir feuille séparée

Concernant le point I**Base du rapport**

Les modifications introduites avec la lettre du 11.07.2000 sont en accord avec les dispositions de l'article 34(2) b) PCT et le présent rapport est établi sur la base des nouvelles revendications 1-8.

Concernant le point III**Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle**

La présente Administration considère que l'objet de la revendication 8 est visé par les dispositions de la règle 67.1 (iv) PCT. C'est pourquoi il ne sera pas émis d'opinion quant à la question de savoir si l'objet de ces revendications est susceptible d'application industrielle (article 34(4) a) i) PCT).

Concernant le point IV**Absence d'unité de l'invention**

La présente demande concerne des compositions pharmaceutiques comprenant soit des acides nucléotidiques qui codent pour un peptide de la famille ONECUT, soit les peptides eux-mêmes, soit des cellules exprimant ces peptides. Parmi les peptides visés figurent le HNF-6, le OC-2 et le OC-3. Le demande concerne de plus l'utilisation de ces compositions à des fins médicales.

Comme sera détaillé dans le point V. de la présente communication, des compositions pharmaceutiques comprenant HNF-6 sont déjà connues dans l'art antérieur. Pour cette raison, le concept commun d'invention, de mise à disposition de compositions pharmaceutiques comprenant un nucléotide ou un peptide de la famille ONECUT n'existe plus. De ce fait les compositions comprenant soit HNF-6, OC-2 ou OC-3 ne sont plus liés à un concept commun d'invention par une caractéristique technique spécifique. Pour cette raison les trois inventions suivantes sont trouvées:

Invention 1: revendications 1, 2 et 5-8, par rapport à HNF-6

Invention 2: revendications 3 et 5-8, par rapport à OC-2

Invention 3: revendications 4 et 5-8, par rapport à OC-3

Conformément à la règle 68.1 PCT, l'examen de la présente demande concerne la demande entière.

Concernant le point V

Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

Il est fait référence aux documents suivants:

D1: LEMAIGRE FP ET AL: 'Hepatocyte nuclear factor 6, a transcription factor that contains a novel type of homeodomain and a single *cut* domain' PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE USA, vol. 93, septembre 1996, pages 9460-9464.

D2: LANDRY C ET AL: 'HNF-6 is expressed in endoderm derivatives and nervous system of the mouse embryo and participates to the cross-regulatory network of liver-enriched transcription factors' DEVELOPMENTAL BIOLOGY, vol. 192, 15 décembre 1997 (1997-12-15), pages 247-257.

D3: VAISSE C ET AL: 'Pancreatic islet expression studies and polymorphic DNA markers in the genes encoding hepatocyte nuclear factor-3alpha, -3beta, -3gamma, -4gamma, and -6' DIABETES, vol. 46, no. 8, août 1997 (1997-08), pages 1364-1367.

D4: RAUSA F ET AL: 'The cut-homeodomain transcriptional activator HNF-6 is coexpressed with its target gene HNF-3 beta in the developing murine liver and pancreas' DEVELOPMENTAL BIOLOGY, vol. 192, 15 décembre 1997 (1997-12-15), pages 228-246.

D5: LANNOY V ET AL: 'Isoforms of Hepatocyte Nuclear Factor-6 differ in DNA-binding properties, contain a bifunctional homeodomain, and define the new ONECUT class of homeodomain proteins' JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY., vol. 273, no. 22, 29 mai 1998 (1998-05-29), pages 13552-

13562.

D6: JACQUEMIN P ET AL: 'OC-2, a novel mammalian member of the ONECUT class of homeodomain transcription factors whose function in liver partially overlaps with that of hepatocyte nuclear factor-6' JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY., vol. 274, no. 5, 29 janvier 1999 (1999-01-29), pages 2665-2671.

D1 n'est pas cité dans le rapport de recherche international. Ce document est cité par les demandeurs (description, page 6, ligne 14).

L'examen de la présente demande a été établi en assumant un droit de priorité valable. Si la priorité de la présente demande n'était pas valable, le document D6, cité en P,A dans le rapport de recherche international serait à considérer comme pertinent pour les questions de nouveauté des revendications 3 et 5-8, par rapport à OC-2 (invention 2).

Invention 1:

L'objet des revendications 1, 2 et 6 n'est pas nouveau en vertu de l'article 33(2) PCT, car les compositions désignées sont révélées, par rapport à HNF-6 (invention 1) et pour l'ADN et pour le peptide dans D1 (voir partie Materials and Methods, page 9460-9461 et figure 1, page 9461), ainsi que pour les cellules dans D2, page 248, dernier paragraphe et page 249, premier paragraphe).

La revendication 5, qui dépend des revendications 1 et 2 (invention 1) se réfère à une composition pharmaceutique comprenant HNF-6 d'origine humaine (séquence nucléotidique ou polypeptidique). Ainsi les clones et les protéines d'origine humaine présentés dans D4 anticipent la nouveauté de la revendication 5 (D4, page 230, colonne de droite, dernier paragraphe et page 233, colonne de gauche, clone 2 et protéines fusion GST).

Il est noté ici que les documents D1, D2 et D4 ne réfèrent pas en tant que telles à des compositions pharmaceutiques de protéines ou ADN de la famille ONECUT, ou de HNF-6. Cependant il est insisté sur le fait que, à présent aucune caractéristique technique ne permet de distinguer l'objet des revendications 1, 2, 5 et 6, des préparations de protéines, d'ADN ou de cellules, telles que révélées dans les documents D1, D2 et D4. Autrement dit, les contenu de revendications sus-mentionnées comporte bien également les

préparations de protéines et d'ADN purifiées ainsi que les cellules, telles que décrites dans les documents D1, D2 et D4.

En conséquence l'objet des revendications 1, 2, 5 et 6 n'est pas nouveau et ne comporte pas d'activité inventive contrairement aux exigences des articles 33(2) et 33(3) PCT.

De plus les revendications 7 et 8, qui réfèrent à une utilisation médicale, dans le cas du diabète, notamment, des compositions pharmaceutiques des revendications 1-6 et 1-4, respectivement, ne comportent pas d'activité inventive selon l'article 33(3), lorsque elles se réfèrent à HNF-6 (invention 1), pour les raisons suivantes.

D3 décrit que HNF-6 est exprimé dans les cellules β du pancréas (lignée MIN6) ainsi que dans des îlots pancréatiques en culture, et démontre l'existence de polymorphismes dans le gène HNF-6 (D3, page 1365, colonne de gauche, dernier paragraphe et page 1365 colonne de droite, dernier paragraphe; page 1365, tableau 1). De plus est expressément suggéré dans D3, un lien entre HNF-6 et le diabète de type 2 (D3, page 1364, colonne de droite, dernier paragraphe et page 1367, colonne de gauche, dernière phrase du paragraphe discussion). Il était donc évident pour l'homme de métier, désirant de trouver une composition pour utilisation dans le traitement du diabète de proposer l'utilisation d'une composition à base de HNF-6. En conclusion les revendications 7 et 8 ne sont pas basées sur une activité inventive, contrairement à l'article 33(3) PCT.

Invention 2:

L'objet des revendications 3 et 5-8, par rapport à OC-2 (invention 2) peut-être considéré comme nouveau et inventif. En effet la séquence de OC-2 est nouvelle (mise à part D6; voir plus haut) et n'était pas suggérée dans l'art antérieur. La séquence est aussi considérée inventive car certaines évidences sur les fonctions biologiques de OC-2 (up-régulation du gène correspondant dans souris knock-out *hnf-6* avec perte du phénotype diabète, description page 5, lignes 10 à 25; forte expression du gène *oc-2* dans les mélanomes et implication dans l'expression de MITF, description, page 13, lignes 17-25) n'étaient ni suggérés ni prévisibles en vue de l'art antérieur.

Invention 3:

**RAPPORT D'EXAMEN
PRELIMINAIRE INTERNATIONAL - FEUILLE SEPARÉE**

Demande internationale n° PCT/BE99/00112

L'objet des revendications 4 et 5-8, par rapport à OC-3 est également nouveau et pourrait en principe être considéré comme inventif. La séquence de OC-3 est nouvelle en-soi et de plus l'implication de OC-3 dans certaines maladies (diabète, cancer e.g. revendications 7 et 8) n'est pas suggérée ni prévisible en vue de l'art antérieur. Cependant à part l'appartenance à la famille ONECUT (homologie avec HNF-6 et OC-2) aucune information sur la fonction biologique n'est donnée pour OC-3 (voir aussi point VIII. du présent rapport).

Concernant le point VIII

Observations relatives à la demande internationale

Les objections suivantes concernent les articles 5 et 6 PCT.

La revendication 1 manque de clarté par rapport au terme "un peptide de la famille ONECUT caractérisée par [...] domaine homéo". La famille ONECUT telle qu'elle est définie dans l'art antérieur (e.g. D5, page 1357) ou encore comme spécifié dans la revendication 1 ne comprend pour l'instant qu'un certain nombre limité de protéines. Or de nouvelles protéines, non encore connues, peuvent, à cause de leur structure primaire être classés dans cette famille de protéines indépendamment du fait qu'ils soient impliqués ou non dans les mêmes processus biologiques que les membres déjà établis de cette famille (e.g. HNF-6, OC-2 et OC-3). De ce fait le terme "famille ONECUT caractérisée par [...] domaine homéo" est un terme ouvert, susceptible de désigner avec le temps, toujours d'autres molécules et donc de varier dans sa signification avec le temps. De plus, l'appartenance d'un peptide à une certaine famille peut dans certains cas dépendre d'une appréciation subjective et ne peut pas toujours être établie avec certitude. Pour cette raison l'objet de la revendication 1, n'est pas clairement défini.

L'objet des revendications 7 et 8, par rapport à "OC-3" (invention 3) est susceptible d'une objection en vertu des l'articles 5 et 6 PCT. En effet les seules données biologiques qui sont apportées dans la description pour OC-3 sont la séquence en acides aminés (voir aussi l'objection ci-dessus) et qu'il existe une homologie entre HNF-6, OC-2 et OC-3, de manière que les demandeurs classent toutes ces molécules dans la famille des protéines ONECUT (description, page 5, lignes 1-12). Aucune donnée biologique ne permet d'affirmer que OC-3 est effectivement impliqué dans le diabète, le cancer ou dans le

syndrome de Waardenburg, ni dans une autre pathologie d'ailleurs. Revendiquer l'utilisation de OC-3 à des fins médicales et pour ces maladies précises relève dès lors de la pure spéculation, pour laquelle aucune base n'est présentée dans la description.

5

REVENDICATIONS

1. Composition pharmaceutique comprenant un véhicule pharmaceutique acceptable et un élément choisi parmi le groupe constitué par une séquence nucléotidique codant une protéine de la famille ONECUT caractérisée par la présence d'un seul domaine CUT et la présence d'une dyade F48M50 dans le domaine homéo, un vecteur comprenant cette séquence nucléotidique, la séquence protéinique codée par cette séquence nucléotidique et/ou une lignée cellulaire transformée par ledit vecteur et exprimant 10 la dite protéine de la famille ONECUT.

2. Composition pharmaceutique selon la revendication 1, caractérisée en ce que la protéine de la famille ONECUT est le HNF-6 sous ses deux isoformes.

3. Composition pharmaceutique selon la revendication 1, caractérisée en ce que la protéine de la famille ONECUT est le OC-2 dont la séquence en acides aminés est SEQ ID NO. 2.

4. Composition pharmaceutique cellulaire selon la revendication 1, caractérisée en ce que la protéine de la famille ONECUT est le OC-3 dont la séquence en acides aminés est SEQ ID NO. 3.

5. Composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que lesdites séquences nucléotidique et polypeptidique sont des séquences nucléotidique et polypeptidique humaines.

6. Composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que le vecteur est choisi parmi le groupe constitué par

les plasmides, les virus, les phagémides, les vésicules lipidiques, en particulier les vésicules cationiques, les liposomes ou un mélange d'entre eux.

7. Utilisation de la composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications précédentes pour la préparation d'un médicament destiné à la prévention et/ou au traitement du diabète de type 1 ou de type 2 ou des affections liées au diabète, à la prévention et/ou au traitement du cancer en particulier du mélanome, et à la prévention et au traitement du syndrome de Waardenburg.

8. Procédé de traitement thérapeutique d'un patient, de préférence d'un patient humain, susceptible de développer ou souffrant d'un diabète, d'un cancer, en particulier d'un mélanome, ou du syndrome de Waardenburg, caractérisé en ce que l'on administre ex vivo la composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 1 à 4 en isolant un fluide corporel ou une ou plusieurs cellules du patient, en traitant lesdites cellules ou les cellules présentes dans ce fluide corporel par la composition pharmaceutique de l'invention ou par le vecteur compris dans cette composition pharmaceutique et en réinjectant audit patient les cellules transformées.

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference P.UCL.64/WO	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA 416)	
International application No. PCT/BE99/00112	International filing date (day month year) 17 August 1999 (17.08.99)	Priority date (day month year) 17 August 1998 (17.08.98)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 15/12, 15/86, 15/88, 5/10, C07K 14/47, A61K 38/17, 48/00		
Applicant UNIVERSITE CATHOLIQUE DE LOUVAIN		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 11 sheets, including this cover sheet.

This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of 2 sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I Basis of the report
- II Priority
- III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV Lack of unity of invention
- V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI Certain documents cited
- VII Certain defects in the international application
- VIII Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 02 March 2000 (02.03.00)	Date of completion of this report 27 November 2000 (27.11.2000)
Name and mailing address of the IPEA EP	Authorized officer
Faxsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/BE99/00112

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments*)

 the international application as originally filed. the description. pages 1-18, as originally filed.

pages _____, filed with the demand.

pages _____, filed with the letter of _____

pages _____, filed with the letter of _____

 the claims. Nos. _____, as originally filed.

Nos. _____, as amended under Article 19.

Nos. _____, filed with the demand.

Nos. 1-8, filed with the letter of 11 July 2000 (11.07.2000)

Nos. _____, filed with the letter of _____

 the drawings. sheets/fig 1/1, as originally filed.

sheets/fig _____, filed with the demand.

sheets/fig _____, filed with the letter of _____

sheets/fig _____, filed with the letter of _____

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

 the description. pages _____ the claims. Nos. _____ the drawings. sheets/fig _____

3. This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/BE 99/00112

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.*):

The amendments introduced with the letter of November 7, 2000 meet the requirements of PCT Article 34(2) (b), and the present report is based on the new Claims 1-8.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/BE99/00112

III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

 the entire international application. claims Nos. 8 (1A)

because

 the said international application, or the said claims Nos. 8 (1A) relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*) the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. _____ are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*): the claims, or said claims Nos. _____ are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed. no international search report has been established for said claims Nos. _____

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/BE 99/00112

Supplemental Box
(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: III

The present Authority considers that the subject matter of Claim 8 is covered by the provisions of PCT Rule 67.1(iv). For this reason, no opinion shall be established as to whether the subject matter of this claim is industrially applicable (PCT Article 34(4)(a)(i)).

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/BE99/00112

IV. Lack of unity of invention

1. In response to the invitation to restrict or pay additional fees the applicant has:

- restricted the claims.
- paid additional fees.
- paid additional fees under protest.
- neither restricted nor paid additional fees.

2. This Authority found that the requirement of unity of invention is not complied with and chose, according to Rule 68.1, not to invite the applicant to restrict or pay additional fees.

3. This Authority considers that the requirement of unity of invention in accordance with Rules 13.1, 13.2 and 13.3 is

- complied with
- not complied with for the following reasons:

4. Consequently, the following parts of the international application were the subject of international preliminary examination in establishing this report:

- all parts.
- the parts relating to claims Nos. _____

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORTInternational application No.
PCT/BE 99/00112**Supplemental Box**
(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: IV

The present application relates to pharmaceutical compositions including either nucleotide acids coding for a peptide of the ONECUT class, the peptides themselves, or cells expressing said peptides. Among the peptides in question are HNF-6, OC-2 and OC-3. The application relates to the medical use of these compositions.

As will be discussed in Box V of the present report, pharmaceutical compositions including HNF-6 are already known from the prior art. For this reason, the shared inventive concept of providing pharmaceutical compositions including a nucleotide or a peptide of the ONECUT class is no longer present. Due to this fact, the compositions including either HNF-6, OC-2 or OC-3 are no longer linked by a specific technical feature to a shared inventive concept. As a result, the three following inventions are present:

Invention 1: Claims 1, 2 and 5-8, for HNF-6

Invention 2: Claims 3 and 5-8, for OC-2

Invention 3: Claims 4 and 5-8, for OC-3

Pursuant to PCT Rule 68.1, the examination of the present application relates to the entire application.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/BE 99/00112V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability;
citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	3, 4, 7, 8	YES
	Claims	1, 2, 5, 6	NO
Inventive step (IS)	Claims	3, 4	YES
	Claims	1, 2, 5-8	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-7	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

Reference is made to the following documents:

D1: LEMAIGRE FP ET AL: 'Hepatocyte nuclear factor 6, a transcription factor that contains a novel type of homeodomain and a single cut domain' PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE USA, Vol. 93, September 1996, pages 9460-9464,

D2: LANDRY C ET AL: 'HNF-6 is expressed in endoderm derivatives and nervous system of the mouse embryo and participates to the cross-regulatory network of liver-enriched transcription factors' DEVELOPMENTAL BIOLOGY, Vol. 192, 15 December 1997 (1997-12-15), pages 247-257,

D3: VASSE C ET AL: 'Pancreatic islet expression studies and polymorphic DNA markers in the genes encoding hepatocyte nuclear factor-3alpha, -3beta, -3gamma, -4gamma, and -6' DIABETES, Vol. 46, no. 8, August 1997 (1997-08), pages 1364-1367,

D4: RAUSA F ET AL: 'The cut-homeodomain transcriptional activator HNF-6 is coexpressed with its target gene HNF-3 beta in the developing murine liver and pancreas' DEVELOPMENTAL BIOLOGY, Vol. 192, 15 December

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORTInternational application No.
PCT/BE 99/00112

1997 (1997-12-15), pages 228-246,

D5: LANNOY V ET AL: 'Isoforms of Hepatocyte Nuclear Factor-6 differ in DNA-binding properties, contain a bifunctional homeodomain, and define the new ONECUT class of homeodomain proteins' JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY., Vol. 273, no. 22, 29 May 1998 (1998-05-29), pages 13552-13562,

D6: JACQUEMIN P ET AL: 'OC-2, a novel mammalian member of the ONECUT class of homeodomain transcription factors whose function in liver partially overlaps with that of hepatocyte nuclear factor-6' JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, Vol. 274, no. 5, 29 January 1999 (1999-01-29), pages 2665-2671.

D1 has not been cited in the international search report. This document has been cited by the applicants (description, page 6, line 14).

The examination of the present application has been carried out on the assumption that the right of priority is valid. If the priority of the present application were not valid, document D6, cited as a P and A document in the international search report, would be considered relevant in assessing the novelty of Claims 3 and 5-8, relating to OC-2 (invention 2).

Invention 1:

The subject matter of Claims 1, 2 and 6 is not novel within the meaning of PCT Article 33(2), since the designated compositions are disclosed in D1 [HNF-6 (invention 1), DNA and peptide] (see Materials and Methods, page 9460-9461 and Figure 1, page 9461), as

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/BE 99/00112

well as in D2 [cells] (page 248, last paragraph and page 249, first paragraph).

Claim 5, which is dependent on Claims 1 and 2 (invention 1), refers to a pharmaceutical composition including human HNF-6 (nucleotide or polypeptide sequence). Therefore, the human clones and proteins in D4 deprive Claim 5 of novelty (D4, page 230, right-hand column, last paragraph and page 233, left-hand column, clone 2 and GST fusion proteins).

It should be noted that documents D1, D2 and D4 do not actually relate to pharmaceutical compositions of proteins or DNA of the ONECUT class or HNF-6. However, it should be stressed that no technical feature presently distinguishes the subject matter of Claims 1, 2, 5 and 6 from the preparations of proteins, DNA or cells as disclosed in documents D1, D2 and D4. In other words, the content of said claims also comprises the purified protein and DNA preparations and the cells as described in documents D1, D2 and D4.

Therefore, the subject matter of Claims 1, 2, 5 and 6 is not novel and does not involve an inventive step within the meaning of PCT Article 33(2) and (3).

Moreover, Claims 7 and 8, which relate to a medical use, particularly for diabetes, of the pharmaceutical compositions of Claims 1-6 and 1-4, respectively, do not involve an inventive step according to PCT Article 33(3), when they refer to HNF-6 (invention 1), for the following reasons:

D3 states that HNF-6 is expressed in the β cells of the pancreas (line MIN6) and in cultured pancreatic islets, and discloses polymorphisms in the HNF-6 gene (D3, page 1365, left-hand column, last paragraph and page 1365, right-hand column, last paragraph; page 1365, Table 1). Furthermore, it is clearly suggested in D3 that there is a link between HNF-6 and type 2 diabetes (D3, page 1364, right-hand column, last paragraph and page 1367, left-hand column, last sentence of the discussion paragraph). It is therefore obvious for a person skilled in the art wishing to find a composition for use in the treatment of diabetes to propose using an HNF-6-based composition. Therefore, Claims 7 and 8 are not inventive (PCT Article 33(3)).

Invention 2:

The subject matter of Claims 3 and 5-8, which relates to OC-2 (invention 2), can be considered novel and inventive. The OC-2 sequence is novel (without taking into consideration D6, see above), and has not been suggested in the prior art. The sequence is also considered inventive, since certain evidence on the biological functions of OC-2 (up-regulation of the corresponding gene in HNF-6 knock-out mice with a loss of the diabetes phenotype, description page 5, lines 10 to 25; strong expression of the OC-2 gene in melanomas and involvement in the expression of MITF, description, page 13, lines 17-25) were neither suggested nor predictable in light of the prior art.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/BE 99/00112

Invention 3

The subject matter of Claims 4 and 5-8, which relates to OC-3, is also novel and could in principle be considered inventive. The OC-3 sequence is novel in and of itself, and moreover, the involvement of OC-3 in certain diseases (diabetes, cancer, e.g. Claims 7 and 8) is neither suggested nor predictable in light of the prior art. However, apart from the fact that it belongs to the ONECUT class (homology with HNF-6 and OC-2), no information concerning the biological function of OC-3 has been given (see also Box VIII of the present report).

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORTInternational application No.
PCT/BE 99/00112**VIII. Certain observations on the international application**

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

The following objections relate to PCT Articles 5 and 6.

Claim 1 lacks clarity owing to the expression "a peptide of the ONECUT class characterized by [...] homeo domain". The ONECUT class as defined in the prior art (e.g. D5, page 1357), or as specified in Claim 1, currently includes only a limited number of proteins. However, the novel proteins which are not yet known could, owing to their primary structure, be classified in said class of proteins regardless of whether or not they are involved in the same biological processes as the already established members of said class (e.g. HNF-6, OC-2 and OC-3). For this reason, the expression "ONECUT class characterized by [...] homeo domain" is an open-ended expression that could, over time, designate ever more molecules and therefore vary in meaning. Moreover, the class a peptide belongs to can in certain cases be subjective, and cannot always be established with certainty. For this reason, the subject matter of Claim 1 has not been clearly defined.

The subject matter of Claims 7 and 8, which relate to "OC-3" (invention 3), does not meet the requirements of PCT Articles 5 and 6. The only biological data provided in the description for OC-3 is the amino acid sequence (see also the above objection) and the existence of homology between HNF-6, OC-2 and OC-3, which is why the applicants classify all these molecules in the ONECUT class of proteins (description, page 5, lines 1-12). No biological data enables it to be stated that OC-3 is indeed involved in diabetes, cancer, Waardenburg syndrome, or any other illness. Claiming the medical use of OC-3 for these

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/BE 99/00112

VIII. Certain observations on the international application

specific illnesses is pure speculation for which there is no basis in the description.

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

(article 18 et règles 43 et 44 du PCT)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire P.UCL.64/WO	POUR SUITE A DONNER	voir la notification de transmission du rapport de recherche internationale (formulaire PCT/ISA/220) et, le cas échéant, le point 5 ci-après
Demande internationale n° PCT/B E 99/00112	Date du dépôt international (jour/mois/année) 17/08/1999	(Date de priorité (la plus ancienne) (jour/mois/année) 17/08/1998
Déposant		

UNIVERSITE CATHOLIQUE DE LOUVAIN et al.

Le présent rapport de recherche internationale, établi par l'administration chargée de la recherche internationale, est transmis au déposant conformément à l'article 18. Une copie en est transmise au Bureau international.

Ce rapport de recherche internationale comprend 4 feuillets.



Il est aussi accompagné d'une copie de chaque document relatif à l'état de la technique qui y est cité.

1. Base du rapport

- a. En ce qui concerne la **langue**, la recherche internationale a été effectuée sur la base de la demande internationale dans la langue dans laquelle elle a été déposée, sauf indication contraire donnée sous le même point.
 - la recherche internationale a été effectuée sur la base d'une traduction de la demande internationale remise à l'administration.
- b. En ce qui concerne les **séquences de nucléotides ou d'acides aminés** divulguées dans la demande internationale (le cas échéant).
 - contenu dans la demande internationale, sous forme écrite.
 - déposée avec la demande internationale, sous forme déchiffrable par ordinateur.
 - remis ultérieurement à l'administration, sous forme écrite.
 - remis ultérieurement à l'administration, sous forme déchiffrable par ordinateur.
 - La déclaration, selon laquelle le listage des séquences présenté par écrit et fourni ultérieurement ne vas pas au-delà de la divulgation faite dans la demande telle que déposée, a été fournie.
 - La déclaration, selon laquelle les informations enregistrées sous forme déchiffrable par ordinateur sont identiques à celles du listage des séquences présenté par écrit, a été fournie.

2. Il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (voir le cadre I).

3. Il y a absence d'unité de l'invention (voir le cadre II).

4. En ce qui concerne le **titre**,

- le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant.
- Le texte a été établi par l'administration et a la teneur suivante:
COMPOSITION PHARMACEUTIQUE DESTINEE AU TRAITEMENT OU A LA PREVENTION DU DIABETE DU CANCER, OU DU SYDROME DE WAARDENBURG

5. En ce qui concerne l'**abrégé**,

- le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant
- le texte (reproduit dans le cadre III) a été établi par l'administration conformément à la règle 38.2b). Le déposant peut présenter des observations à l'administration dans un délai d'un mois à compter de la date d'expédition du présent rapport de recherche internationale.

6. La figure **des dessins** à publier avec l'abrégé est la Figure n°

- suggérée par le déposant.
- parce que le déposant n'a pas suggéré de figure.
- parce que cette figure caractérise mieux l'invention.

2

Aucune des figures n'est à publier.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/BE 99/00112

Cadre I Observations – lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 1 de la première feuille)

Conformément à l'article 17.2(a), certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche pour les motifs suivants:

1. Les revendications n°^s se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir:
Bien que la revendication 8 concerne une méthode de traitement du corps humain/animal, la recherche a été effectuée et basée sur les effets imputés au produit/à la composition
2. Les revendications n°^s se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:
3. Les revendications n°^s sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).

Cadre II Observations – lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 2 de la première feuille)

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

1. Comme toutes les taxes additionnelles ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.
2. Comme toutes les recherches portant sur les revendications qui s'y prétaient ont pu être effectuées sans effort particulier justifiant une taxe additionnelle, l'administration n'a sollicité le paiement d'aucune taxe de cette nature.
3. Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n°^s
4. Aucune taxe additionnelle demandée n'a été payée dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est couverte par les revendications n°^s

Remarque quant à la réserve

Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant.

Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale N°
PCT/BE 99/00112

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
 CIB 7 C12N15/12 C12N15/86 C12N15/88 C12N5/10 C07K14/47
 A61K38/17 A61K48/00

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 C12N C07K A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porte la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERÉS COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	LANDRY C ET AL: "HNF-6 is expressed in endoderm derivatives and nervous system of the mouse embryo and participates to the cross-regulatory network of liver-enriched transcription factors" DEVELOPMENTAL BIOLOGY, vol. 192, 15 décembre 1997 (1997-12-15), pages 247-257, XP002102837 cité dans la demande figures 5B,5E,5F ---	1,2,5-8
Y	WO 98 11254 A (MENZEL STEPHAN ;KAISAKI PAMELA J (GB); FURUTA HIROTO (JP); YAMAGAT) 19 mars 1998 (1998-03-19) cité dans la demande revendication 61 ---	1,2,5-8 -/-

Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

° Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

19 janvier 2000

04/02/2000

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
 Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel: (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
 Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Lonnoy, O

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale N°
PCT/BE 99/00112

C (suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		no des revendications visées
Categorie	Identification des documents cités, avec le cas échéant, l'indication des passages pertinents	
Y	WO 98 23780 A (JOSLIN DIABETES CENTER INC) 4 juin 1998 (1998-06-04) revendication 39 ----	1, 2, 5-8
A	LANNOY V ET AL: "Isoforms of Hepatocyte Nuclear Factor-6 differ in DNA-binding properties, contain a bifunctional homeodomain, and define the new ONECUT class of homeodomain proteins" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY., vol. 273, no. 22, 29 mai 1998 (1998-05-29), pages 13552-13562, XP002102835 cité dans la demande figure 6 ----	
A	RAUSA F ET AL: "The cut-homeodomain transcriptional activator HNF-6 is coexpressed with its target gene HNF-3 beta in the developing murine liver and pancreas" DEVELOPMENTAL BIOLOGY, vol. 192, 15 décembre 1997 (1997-12-15), pages 228-246, XP002102838 cité dans la demande ----	
A	SPEK C ET AL: "Type I protein C deficiency caused by disruption of a hepatocyte nuclear factor (HNF)-6/HNF-1 binding site in the human protein C gene promoter" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY., vol. 273, no. 17, 24 avril 1998 (1998-04-24), pages 10168-10173, XP002128195 ----	
A	VAISSE C ET AL: "Pancreatic islet expression studies and polymorphic DNA markers in the genes encoding hepatocyte nuclear factor-3alpha, -3beta, -3gamma, -4gamma, and -6" DIABETES, vol. 46, no. 8, août 1997 (1997-08), pages 1364-1367, XP002128116 ----	
P, A	JACQUEMIN P ET AL: "OC-2, a novel mammalian member of the ONECUT class of homeodomain transcription factors whose function in liver partially overlaps with that of hepatocyte nuclear factor-6" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY., vol. 274, no. 5, 29 janvier 1999 (1999-01-29), pages 2665-2671, XP002128117 cité dans la demande -----	

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/BE 99/00112

Cadre I Observations - lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 1 de la première feuille)

Conformément à l'article 17 2)a), certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche pour les motifs suivants:

1. Les revendications n°s se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir:
Bien que la revendication 8 concerne une méthode de traitement du corps humain/animal, la recherche a été effectuée et basée sur les effets imputés au produit/à la composition
2. Les revendications n°s se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:
3. Les revendications n°s sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).

Cadre II Observations - lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 2 de la première feuille)

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

1. Comme toutes les taxes additionnelles ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.
2. Comme toutes les recherches portant sur les revendications qui s'y prêtaient ont pu être effectuées sans effort particulier justifiant une taxe additionnelle, l'administration n'a sollicité le paiement d'aucune taxe de cette nature.
3. Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n°s
4. Aucune taxe additionnelle demandée n'a été payée dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est couverte par les revendications n°s

Remarque quant à la réserve

- Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant.
- Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande Internationale No

PCT/BE 99/00112

Document brevet cité du rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9811254 A	19-03-1998	AU 4340297 A EP 0920534 A	02-04-1998 09-06-1999
WO 9823780 A	04-06-1998	AUCUN	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internat'l Application No
PCT/BE 99/00112

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER	IPC 7 C12N15/12	C12N15/86	C12N15/88	C12N5/10	C07K14/47
	A61K38/17	A61K48/00			

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 C12N C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category :	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>LANDRY C ET AL: "HNF-6 is expressed in endoderm derivatives and nervous system of the mouse embryo and participates to the cross-regulatory network of liver-enriched transcription factors" DEVELOPMENTAL BIOLOGY, vol. 192, 15 December 1997 (1997-12-15), pages 247-257, XP002102837 cited in the application figures 5B,5E,5F ---</p>	1,2,5-8
Y	<p>WO 98 11254 A (MENZEL STEPHAN ;KAISAKI PAMELA J (GB); FURUTA HIROTO (JP); YAMAGAT) 19 March 1998 (1998-03-19) cited in the application claim 61 ---</p>	1,2,5-8 -/-

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority, claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the International search

Date of mailing of the international search report

19 January 2000

04/02/2000

Name and mailing address of the ISA
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel: (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Lonnoy, O

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internat'l Application No
PCT/BE 99/00112

C (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No
Y	WO 98 23780 A (JOSLIN DIABETES CENTER INC) 4 June 1998 (1998-06-04) claim 39 ---	1,2,5-8
A	LANNOY V ET AL: "Isoforms of Hepatocyte Nuclear Factor-6 differ in DNA-binding properties, contain a bifunctional homeodomain, and define the new ONECUT class of homeodomain proteins" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY., vol. 273, no. 22, 29 May 1998 (1998-05-29), pages 13552-13562, XP002102835 cited in the application figure 6 ---	
A	RAUSA F ET AL: "The cut-homeodomain transcriptional activator HNF-6 is coexpressed with its target gene HNF-3 beta in the developing murine liver and pancreas" DEVELOPMENTAL BIOLOGY, vol. 192, 15 December 1997 (1997-12-15), pages 228-246, XP002102838 cited in the application ---	
A	SPEK C ET AL: "Type I protein C deficiency caused by disruption of a hepatocyte nuclear factor (HNF)-6/HNF-1 binding site in the human protein C gene promoter" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY., vol. 273, no. 17, 24 April 1998 (1998-04-24), pages 10168-10173, XP002128195 ---	
A	VAISSÉ C ET AL: "Pancreatic islet expression studies and polymorphic DNA markers in the genes encoding hepatocyte nuclear factor-3alpha, -3beta, -3gamma, -4gamma, and -6" DIABETES, vol. 46, no. 8, August 1997 (1997-08), pages 1364-1367, XP002128116 ---	
P,A	JACQUEMIN P ET AL: "OC-2, a novel mammalian member of the ONECUT class of homeodomain transcription factors whose function in liver partially overlaps with that of hepatocyte nuclear factor-6" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY., vol. 274, no. 5, 29 January 1999 (1999-01-29), pages 2665-2671, XP002128117 cited in the application -----	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/BE 99/00112

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although Claim 8 concerns a method of treatment for the human/animal body, the search was carried out on the basis of the effects attributed to the product/composition.

2. Claims Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6 4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
 No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/BE 99/00112

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9811254 A	19-03-1998	AU 4340297 A EP 0920534 A	02-04-1998 09-06-1999
WO 9823780 A	04-06-1998	NONE	

PCT

ORGANISATION MONDIALE DE LA PROPRIETE INTELLECTUELLE
Bureau international



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIEE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁷ :	A1	(11) Numéro de publication internationale:	WO 00/11159
C12N 15/12, 15/86, 15/88, 5/10, C07K 14/47, A61K 38/17, 48/00		(43) Date de publication internationale:	2 mars 2000 (02.03.00)

(21) Numéro de la demande internationale: PCT/BE99/00112

(22) Date de dépôt international: 17 août 1999 (17.08.99)

(30) Données relatives à la priorité:
9800609 17 août 1998 (17.08.98) BE

(71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): UNIVERSITE CATHOLIQUE DE LOUVAIN [BE/BE]; Halles Universitaires, Place de l'Université 1, B-1348 Louvain-la-Neuve (BE).

(72) Inventeurs; et
(75) Inventeurs/Déposants (US seulement): ROUSSEAU, Guy [BE/BE]; Avenue de la Chapelle 21, B-1200 Bruxelles (BE). LEMAIGRE, Frédéric [BE/BE]; Avenue de l'Ange 30, B-1410 WATERLOO (BE).

(74) Mandataires: VAN MALDEREN, Eric etc.; Office Van Malderen, Place Reine Fabiola 6/1, B-1083 Bruxelles (BE).

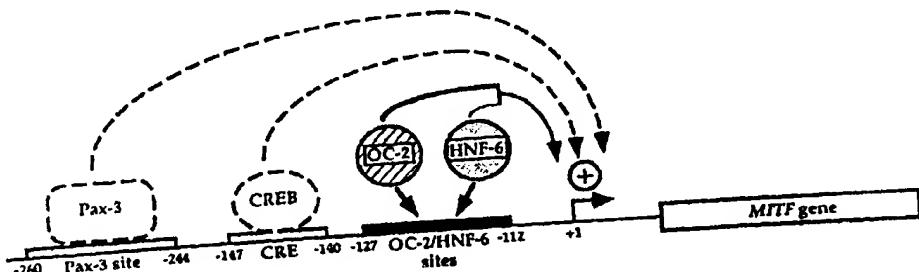
(81) Etats désignés: CA, JP, US, brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).

Publiée

Avec rapport de recherche internationale.
Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont requises.

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR TREATING OR PREVENTING DIABETES OR CANCER, OR THE WAARDENBURG SYNDROME

(54) Titre: COMPOSITION PHARMACEUTIQUE DESTINEE AU TRAITEMENT OU A LA PREVENTION DU DIABETE, DU CANCER OU DU SYNDROME DE WAARDENBURG



(57) Abstract

The invention concerns a pharmaceutical composition comprising an adequate pharmaceutical support and an element selected among the group consisting of a nucleotide sequence coding for a peptide of the ONECUT family, a vector comprising said nucleotide sequence, the polypeptide sequence coded by said nucleotide sequence and/or a cell line transformed by said vector and expressing the peptide of the ONECUT family.

(57) Abrégé

La présente invention concerne une composition pharmaceutique comprenant un véhicule pharmaceutique adéquat et un élément choisi parmi le groupe constitué par une séquence nucléotidique codant un peptide de la famille ONECUT, un vecteur comprenant cette séquence nucléotidique, la séquence polypeptidique codée par cette séquence nucléotidique et/ou une lignée cellulaire transformée par ledit vecteur et exprimant le peptide de la famille ONECUT.

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publient des demandes internationales en vertu du PCT.

AI	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yugoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroon	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakhstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Saline-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Liberia	SG	Singapour		
EE	Estonie						

5

COMPOSITION PHARMACEUTIQUE DESTINEE AU TRAITEMENT OU A LA PREVENTION DU DIABETE
DU CANCER, OU DU SYDROME DE WAARDENBURG

10

Objet de l'invention

La présente invention est relative à une nouvelle composition pharmaceutique destinée au traitement ou à la prévention du diabète ou du cancer, en particulier 15 une thérapie cellulaire du diabète par la création d'un pancréas artificiel.

La présente invention est également relative à un dispositif de diagnostic destiné au diagnostic et au suivi de l'évolution du diabète ou du cancer.

20

Arrière-plan technologique à la base de l'invention

Le diabète est un terme générique sous lequel on désigne des affections caractérisées par l'association d'une polyurie et d'une polydipsie. Le diabetes mellitus, 25 dénommé également ci-après diabète sucré, qui peut être de type 1 ou de type 2, est dû à un mauvais fonctionnement des cellules bêta du pancréas endocrinien (îlots de Langerhans) qui synthétise et secrète l'insuline (Gerich & Haeften, COED 5, pp. 144-148 (1998)). Il s'accompagne souvent 30 (diabète de type 2) d'une résistance des tissus cibles à l'action de l'insuline.

Le diabète sucré est l'une des maladies métaboliques les plus fréquentes, en particulier dans le monde industrialisé (Leahy, COED 5, pp. 73-74 (1998)). Il

est caractérisé par une déficience de l'utilisation du glucose et peut avoir des conséquences pathologiques graves et parfois mortelles, telles que des troubles métaboliques, des problèmes cardiovasculaires et neurologiques, des lésions rétiniennes ou rénales. Le traitement par insuline exige une ou plusieurs injections quotidiennes à vie.

Par conséquent, il existe un besoin certain de remplacer ces injections par des systèmes transplantables (Gage et al., *Nature* 392, Supplément 3 10 (1998)).

Etat de la technique

Le document Lemaigre et al. (1996) décrit un cDNA codant le facteur nucléaire hépatocytaire 6, dénommé ci-après HNF-6. La dénomination de cette molécule comme facteur nucléaire hépatocytaire (HNF) est une dénomination arbitraire qui indique que cette molécule est un facteur présent dans les noyaux des hépatocytes sans préjuger de la parenté ou non avec les autres molécules identifiées également comme hépatocytes nuclear factor HNF-1 à HNF-4. Cette protéine HNF-6 contrôle la transcription de certains gènes dans un petit nombre de tissus où elle est exprimée (Samadani & Costa (1996)). L'expression de cette molécule a été notamment identifiée dans le pancréas de souris (Landry 20 et al. (1997) et Rausa et al. (1997)).

Il est connu également que la molécule HNF-6 exerce un contrôle sur le synthèse de HNF-4 dans les cellules en culture. Cependant, aucun de ces documents ne mentionne qu'une modification du gène animal ou humain codant pour le HNF-6 est susceptible de provoquer un diabète dans un organisme entier.

Contrairement à ce qui est suggéré dans le document WO98/11254 et la publication de Duncan et al. (Science Vol. 282, pp. 692-695, Juillet 1998), la molécule

HNF-3 contrôle la synthèse de la molécule HNF-4 dans les cellules en culture, mais une modification affectant le gène codant pour la molécule HNF-3 n'est pas susceptible de provoquer un diabète chez l'animal, y compris l'humain.

La demande de brevet français FR-2,696,755 décrit une capsule implantable comprenant une enveloppe externe constituée par un hydrogel d'acrylonitrile et de méthallysulfonate de sodium, un noyau interne comprenant une substance encapsulée pouvant être constituée d'îlots de 5 Langerhans, de cellules bêta pancréatiques ou d'hépatocytes. L'enveloppe est une membrane biocompatible sélectivement perméable à l'insuline ou aux nutriments nécessaires à la substance à encapsuler. Ce produit peut 10 être utilisé dans la transplantation de cellules ou de groupes de cellules tels que des îlots de Langerhans pour pallier l'insuffisance de production d'insuline chez les 15 malades diabétiques.

La demande internationale de brevet WO95/09231 décrit des nouvelles lignées cellulaires bêta-insulino-sécrétrices pouvant se présenter sous forme de 20 "pseudo-îlots" pouvant être encapsulés dans un hydrogel biocompatible; éventuellement incorporé dans des fibres transplantables destinées à être introduites chez le patient par une voie sous-cutanée ou intrapéritonéale de 25 manière à traiter des malades insulino-dépendants.

La demande internationale de brevet WO95/29988 décrit un procédé de culture de lignées cellulaires, en particulier de cellules pancréatiques, susceptibles de créer des îlots cellulaires réimplantables 30 in vivo chez un mammifère de manière à traiter des maladies pancréatiques chez l'homme ou l'animal.

Une caractéristique essentielle des lignées cellulaires utilisables dans la thérapie substitutive du diabète insulino-dépendant est de pouvoir sécréter

l'insuline en réponse au glucose (glucose-stimulated insulin secretion, GSIS). Ceci suppose la stabilité, dans ces cellules, de l'expression des gènes impliqués dans la GSIS. La GSIS dépend notamment de GLUT-2, qui est le transporteur du glucose dans les cellules bêta, et de la glucokinase, qui est requise pour la production du signal GSIS à partir du glucose. Un problème récurrent de ces lignées est la perte de GLUT-2 et de la glucokinase (Newgard et al.; (1997)). Un autre problème est l'apoptose (Hohmeier et al. (1998)), une mort cellulaire qui peut être provoquée par les hormones glucocorticoïdes.

Buts de l'invention

La présente invention vise à fournir une nouvelle composition pharmaceutique susceptible d'être utilisée dans la prévention ou le traitement du diabète ou du cancer et pouvant être utilisée soit dans le domaine de la thérapie génétique, soit dans le domaine de la thérapie cellulaire sous la présentation d'amas cellulaires ou la formation d'un tissu ou d'un organe pancréatique artificiel.

Un autre but de l'invention consiste à fournir un nouveau dispositif de diagnostic tel qu'une trousse de diagnostic destinée à améliorer le diagnostic et/ou le suivi du diabète ou du cancer, en particulier à différencier certaines évolutions malignes du cancer.

Eléments caractéristiques de l'invention

Les Inventeurs ont découvert de manière inattendue que l'invalidation du gène HNF-6 chez la souris montre que ce gène est essentiel pour le fonctionnement et la formation des îlots de Langerhans et pour la réponse de l'organisme à l'insuline. De plus, les Inventeurs ont montré que d'autres protéines semblables à HNF-6, qui

partagent avec HNF-6 deux particularités, d'une part la présence d'un seul domaine cut et d'autre part la présence de la dyade F48M50 dans le domaine homéo (Lannoy et al. (1998)) appartenant à une même famille dénommée ONECUT (en abrégé OC) (Lannoy et al. (1998) et Jacquemin et al. (1999)), étaient également impliquées dans certains mécanismes métaboliques essentiels. Parmi la famille des protéines ainsi définies, qui comprend notamment la protéine HNF-6, la protéine OC-2 et la protéine OC-3, certaines protéines ont des fonctions essentielles chez l'animal, en particulier chez l'homme, en particulier dans le métabolisme du glucose. Les souris knock-out pour le gène HNF-6 (souris hnf6-/-) ont un diabète sucré. Celui-ci se caractérise par un déficit de GLUT-2 dans les cellules bêta et par une sécrétion insuffisante d'insuline en réponse au glucose (Jacquemin et al., soumis pour publication). Le diabète des souris hnf6-/- finit par guérir spontanément et ceci s'accompagne d'une forte augmentation de OC-2 dans le pancréas. Ces observations illustrent l'importance de HNF-6 et de OC-2 dans le maintien de l'homéostasie glucidique, notamment via le maintien du phénotype différencié des cellules bêta. Les inventeurs ont montré par ailleurs que HNF-6 peut inhiber l'effet des glucocorticoïdes (Pierreux et al. (1999)). En outre, de telles molécules pourraient être utilisées pour traiter, prévenir ou diagnostiquer l'apparition et/ou le développement d'un certain nombre d'affections et de maladies, en particulier le diabète ou le cancer, de préférence le mélanome.

La présente invention est donc relative à une composition pharmaceutique comprenant un véhicule pharmaceutique adéquat et un élément choisi parmi le groupe constitué par une séquence nucléotidique codant une protéine membre de la famille ONECUT, en particulier les

molécules HNF-6, OC-2 ou OC-3 dont les séquences nucléotidiques et peptidiques sont décrites ci-après, un vecteur comprenant ladite séquence nucléotidique, la séquence polypeptidique encodée et/ou une lignée cellulaire transformée par ledit vecteur et exprimant ces dites séquences nucléotidiques, en particulier susceptibles de coder pour la protéine HNF-6 ou un autre membre de la famille ONECUT tel que les molécules OC-2 ou OC-3.

On entend par "séquence nucléotidique codant pour le HNF-6", pour la protéine HNF-6, OC-2 ou OC-3, une séquence nucléotidique dont les parties codantes (comprises dans les exons) correspondent respectivement à la séquence codante correspondant respectivement à la séquence du cDNA telle que déjà décrite par Lemaigre et al. (1996) ou aux séquences telles que décrites ci-dessous (englobant les séquences OC-2 et OC-3), ainsi que les séquences présentant plus de 80%, de préférence plus de 85%, plus particulièrement plus de 90% ou plus de 95% d'homologie (ou d'identité de séquence) avec la séquence du cDNA de la molécule HNF-6 telle que décrite par Lemaigre et al. (1996) ou des séquences équivalentes susceptibles de s'hybrider avec ces séquences nucléotidiques (y compris les séquences des molécules OC-2 et OC-3). Cette hybridation s'effectue de préférence dans des conditions suffisamment stringentes de manière à identifier les différentes séquences génomiques codant une séquence d'acides aminés identique ou similaire aux séquences susmentionnées en particulier d'autres séquences spécifiques d'autres mammifères ayant la même fonction ou étant impliqués dans le même mécanisme biochimique, en particulier ceux dans les exemples ci-dessous, mais éventuellement différents (en particulier par la redondance du code génétique). Des conditions d'hybridation stringentes sont notamment les suivantes :

hybridation à 40 °C dans 50% de formamide, 5x SSC 20 mM sodium phosphate, pH 6.8, lavage dans 0.2x SSC à 50 °C. Des modifications de ces conditions peuvent être proposées par l'homme de l'art en fonction de la longueur et du contenu en nucléotides GC dans la séquence à hybrider. D'autres conditions d'hybridation sont notamment celles décrites par Sambrook et al., §§ 9.47-9.51 in *Molecular Cloning : A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor, Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York (1989).

Selon l'invention, le gène codant le HNF-6 utilisé concerne des séquences génomiques codant les deux isoformes alpha et bêta de HNF-6 telles que décrites par Lannoy et al. (1998).

La composition pharmaceutique de l'invention peut être utilisée pour obtenir une thérapie génétique et/ou cellulaire d'un patient susceptible de développer un diabète ou souffrant d'un diabète, ou susceptible de développer un cancer ou souffrant d'un cancer, en particulier d'un mélanome. Dans le domaine de la thérapie génétique, la séquence nucléotidique de l'invention peut être administrée au patient ou à des lignées cellulaires du patient par un traitement ex vivo de manière nue par des procédés bien connus de l'homme de l'art ou par l'intermédiaire d'un vecteur, de préférence choisi parmi le groupe constitué par les plasmides, les virus, les phagémides, les vésicules lipidiques telles que les lipides cationiques, les liposomes ou un mélange d'entre eux. Le vecteur incorporera tous les éléments nécessaires pour obtenir l'expression de la séquence nucléotidique selon l'invention chez le patient, de préférence dans les lignées cellulaires spécifiques à traiter, telles que les cellules pancréatiques impliquées dans la synthèse de l'insuline, les cellules hépatiques impliquées dans la réponse à

l'insuline ou des cellules de l'épiderme ou du derme susceptibles de développer un mélanome.

La composition pharmaceutique de l'Inventeur peut être également utilisée en thérapie cellulaire par injection directe des cellules par un procédé *in vivo* ou *ex vivo* ou par la formation d'un agrégat cellulaire artificiel tel que décrit dans les demandes de brevet FR-2,696,755, WO95/09231 et WO95/29988. Il est possible d'obtenir la prolifération des cellules transformées par la séquence nucléotidique de l'invention ou le vecteur de l'invention par des procédés bien connus de l'homme de l'art, en particulier ceux décrits dans les demandes de brevet WO97/49728 et WO95/29988.

Le véhicule pharmaceutique selon l'invention varie selon le mode d'administration choisi (intraveineuse, intramusculaire, orale, etc.) et est un excipient bien connu de l'homme de l'art, présenté sous forme de tablettes, de pilules, de capsules, de solutions, de sirops, etc. Ce composant comprend éventuellement des adjuvants (en particulier une hormone de croissance) bien connus de l'homme de l'art de manière à induire des effets synergiques ou supprimer certaines réactions immunitaires ou cellulaires spécifiques ou de manière à réduire certains effets secondaires ou toxiques non désirés du principe actif ou du véhicule de l'invention.

Le pourcentage de produit actif (séquence nucléotidique, séquence d'acides aminés ou fragments de celles-ci, vecteur, lignée cellulaire, etc.) dans la composition pharmaceutique peut varier selon de très larges gammes, uniquement limitées par la fréquence d'administration, la tolérance et le niveau d'acceptation de la composition selon l'invention par le patient.

La présente invention concerne également l'utilisation de la composition pharmaceutique de

l'invention pour la préparation d'un médicament destiné au traitement et/ou à la prévention du diabète de type 1 ou de type 2, des affections liées au diabète, en particulier des affections liées au mauvais fonctionnement des cellules bêta du pancréas endocrinien qui synthétise et sécrète 5 l'insuline, et/ou pour le traitement du cancer, en particulier du mélanome.

Un autre aspect de la présente invention concerne le procédé de traitement d'un patient, en particulier d'un patient susceptible de développer un 10 diabète, souffrant d'un diabète ou susceptible de développer un cancer ou souffrant d'un cancer, en particulier un mélanome, par lequel on administre audit patient la composition pharmaceutique de l'invention par un 15 procédé de traitement *in vivo* ou *ex vivo*.

Un dernier aspect de la présente invention concerne la protection en tant que produit nouveau des séquences nucléotidiques et peptidiques codant pour la molécule OC-2, ainsi que les séquences homologues des 20 séquences OC-2 et OC-3. On entend par séquences homologues, les séquences génétiques présentant plus de 80%, de préférence plus de 85%, plus particulièrement plus de 90% ou plus de 95% d'homologie (ou d'identité de séquence) avec les séquences en acide nucléique et en acide aminé, telles 25 que décrites dans le listing de séquences annexé (SEQ ID 1 à SEQ ID 4) pour autant que cette séquence n'englobe pas la séquence de la molécule HNF-6 telle que décrite par Lemaigre et al. (1996).

Des séquences homologues sont également 30 définies comme des séquences susceptibles de s'hybrider avec les séquences nucléotidiques SEQ ID 1 et SEQ ID 3 encodant les molécules OC-2 et OC-3. Cette hybridation s'effectue de préférence dans des conditions suffisamment stringentes, tel que décrit précédemment.

Outre l'application thérapeutique et prophylactique mentionnée ci-dessus, une seconde application de ces séquences nouvelles encodant les molécules OC-2 et OC-3 est leur application dans le domaine 5 du diagnostic et/ou du suivi de différentes affections, en particulier du diabète et/ou du cancer.

Un dernier aspect de la présente invention concerne donc un dispositif de diagnostic tel qu'une trousse de diagnostic comprenant lesdites séquences nucléotidiques et/ou peptidiques des séquences OC-2, OC-3 10 et HNF-6, ainsi que les différents réactifs destinés au diagnostic et au suivi de maladies, en particulier du diabète, du cancer, notamment le diagnostic et le suivi de l'évolution du mélanome pour une détection basée sur les 15 procédés techniques choisis parmi le groupe constitué par l'hybridation in situ, l'hybridation et l'identification par des anticorps marqués, en particulier par la technique ELISA ou RIA, des procédés d'hybridation sur filtre, sur support solide, en solution, en sandwich, sur gel par 20 hybridation dot blot, par hybridation northern blot, southern blot ou western blot, par un marquage isotopique ou non (tel que de l'immunofluorescence ou un marquage par Biotine), par la technique dite des sondes froides ou par une amplification génétique (ou en particulier par des 25 amplifications par PCR, RT-PCR, LCR ou CPR), par double immunodiffusion, par contre-immunoélectrophorèse, par hémaglutination, ou d'autres techniques bien connues de l'homme de l'art permettant une identification spécifique de séquences nucléotidiques et/ou protéiniques.

Le dispositif de diagnostic peut également 30 comporter des éléments permettant une purification éventuelle d'un échantillon obtenu d'un corps humain ou animal (tel qu'un liquide physiologique), un traitement préalable de cet échantillon, une éventuelle

préamplification de cet échantillon, ainsi qu'un diagnostic et une quantification de cette éventuelle séquence nucléotidique ou protéinique et une analyse corrélée avec l'état général du patient animal ou humain traité. Ces 5 différentes étapes peuvent être effectuées de manière manuelle ou par un automate.

La présente invention sera décrite en détail dans les exemples non limitatifs présentés ci-dessous en référence aux figures annexées.

10

Exemple 1Détection de la différentiation des mélanocytes.

La fonction des mélanocytes de la peau, en réponse à une irradiation par rayonnement UV (Carreira), 15 est de protéger les kératinocytes des dommages sur l'ADN induits par les rayonnements UV via la production du pigment de mélanine. Par analyse génétique, plus de 70 gènes affectant le développement du mélanocyte ont été identifiés et plus de 20 d'entre eux ont été clonés 20 (Opdecamp (1997)).

Un facteur de transcription (microphthalmia-associated transcription factor (MITF)) est impliqué dans la différentiation des mélanocytes chez les humains (Tachibana (1996)). Il est connu que les mutations 25 dans le gène MITF sont associées au syndrome de Waardenburg (Tachibana (1994)). Il est également connu que des mutants des facteurs de transcription Pax-3 ou CREB qui ne possèdent pas cette activité de transcription sont associés avec les syndromes de Waardenburg de type 1 et de type 3 30 (Tassabehji). Puisque le gène Pax-3 code pour une molécule activatrice du MITF, l'identification d'autres facteurs de transcription affectant le gène MITF contribue à améliorer le diagnostic et le suivi de maladies cancéreuses et peut trouver des applications dans le traitement et/ou la

prévention de ces maladies, en particulier du syndrome de Waardenburg.

procédure expérimentale / Reverse-transcription

On effectue une reverse-transcription PCR (RT-PCR) pour détecter l'expression des mRNA humains des molécules OC-2 et HNF-6 dans les mélanocytes et dans différentes cellules de mélanome, un microgramme de RNA total étant de manière reverse en utilisant la transcriptase reverse du virus leucémique moloney murin, et d'autres réactifs (randoms examers (Live technology Inc.)). Les CDNA de ces molécules OC-2 et HNF-6 ont été amplifiés par PCR et la spécificité des produits amplifiés a été identifiée par des expérimentations de southern blotting, tel que décrit par Jacquemin et al. (1997-1999).

L'intégrité des préparations de RNA a été contrôlée par amplification d'un fragment de CDNA de bêta-actine. Les contrôles négatifs incluant la RT-PCR ont été réalisés sans présence de transcriptase reverse

20

Lignées cellulaires de mélanocytes

Les lignées cellulaires 397-MEL et 526-MEL ont été obtenues du National Cancer Institute KANG. Les lignées cellulaires LB373-MEL, BB74-MEL et LB1622-MEL ont été obtenues du Ludwig Institute of Cancer Research, Bruxelles, Belgique).

Expression des gènes codant pour la molécule OC-2 dans les mélanocytes.

Les protéines ONECUT sont notamment exprimées dans les cellules de peau humaine. Cependant, les taux de mRNA codant pour la molécule OC-2 sont particulièrement élevés. L'expression mRNA codant pour la molécule HNF-6 est faible dans ce tissu (Jacquemin et al. (1999)).

pour identifier un type cellulaire exprimant la molécule OC-2, les inventeurs ont effectué une analyse RT-PCR du RNA, des mélanocytes et des mélanomes.

Les produits PCR ont été soumis à une analyse 5 par Southern blotting basée sur l'utilisation de sondes radioactives.

Les résultats présentés dans la Fig. 1 montrent qu'il est possible d'utiliser les séquences nucléotidiques de la famille ONECUT pour obtenir un diagnostic différencié du développement du mélanome.

10 Ces résultats montrent que seul le gène OC-2 est exprimé dans les mélanocytes de la peau.

Par contraste, les deux gènes sont fortement exprimés dans différentes lignées cellulaires de mélanome.

15 Ces deux gènes sont exprimés à des niveaux similaires dans les lignées de mélanome, mais l'expression générale varie suivant les lignées cellulaires testées.

Des essais complémentaires de transfection de lignées cellulaires par des constructions plasmidiques ont permis de démontrer que le site de fixation ONECUT proximal 20 du promoteur MITF est important pour l'activation de ce promoteur et que les facteurs de transcription OC-2 et HNF-6 peuvent stimuler le promoteur MITF (voir Fig. 2). Par la découverte que le facteur de transcription HNF-6 n'est pas 25 exprimé dans les mélanocytes, il apparaît que le facteur de transactivation OC-2 est responsable de la stimulation du promoteur MITF dans ce type de lignée cellulaire et intervient donc dans le développement des mélanocytes. Etant donné que le gène HNF-6 est exprimé à des stades de 30 différentiation des mélanocytes particulièrement précoce et qu'il est également identifié dans les lignées cellulaires de mélanome, on peut considérer que HNF-6 est un marqueur des cellules de mélanome et permet donc de distinguer celles-ci des mélanocytes déjà différenciés.

Par conséquent, les séquences génétiques de l'invention peuvent être avantageusement utilisées pour améliorer et compléter le diagnostic et le suivi de différentes infections et pathologies, en particulier de certains types de cancers (tel que le mélanome), et d'autres syndromes, en particulier le syndrome de Waardenburg qui implique une expression altérée des gènes humains MITF qui affectent en particulier le développement anormal des mélanocytes présents au niveau de la peau, des oreilles et des yeux.

Le gène encodant le facteur OC-2 est également un candidat adéquat dans le domaine de la thérapie génétique pour contrôler le développement mélanocytaire ou pour traiter le syndrome de Waardenburg.

15

Exemple 2Thérapie cellulaire d'un patient

Le protocole opératoire décrit ci-dessous peut s'appliquer à des patients souffrant de différentes pathologies, notamment des patients susceptibles de développer un diabète ou souffrant d'un diabète, susceptibles de développer ou souffrant d'un cancer, en particulier d'un mélanome, ou de patients affectés par le syndrome de Waardenburg.

Il est bien entendu que la composition pharmaceutique de l'invention qui est basée sur une thérapie génétique ou cellulaire peut également être combinée à des traitements basés sur l'utilisation d'autres systèmes régulateurs de gènes, en particulier basés sur l'utilisation des facteurs de transactivation Pax-3 ou CREB précédemment décrits (voir Fig. 2).

En bref, le traitement consiste à planter chez un animal diabétique une lignée de cellules qui auront été programmées pour la GSIS par transfection stable de

HNF-6 (ou de OC-2). Comme décrit plus haut, HNF-6 est en effet réputé maintenir dans les cellules l'expression des gènes du phénotype différencié, en particulier GLUT-2 et la glocokinase dans les cellules bêta, et HNF-6 pourrait 5 s'opposer à l'effet apoptotique des glucocorticoïdes sur les cellules implantées.

Des rats (Wistar males 200-250g) sont rendus diabétiques par une seule injection intraveineuse de streptozotocine (55 mg/kg). Après deux semaines, 10 l'installation du diabète est confirmée par dosage du glucose dans l'urine (>15mM par le "strip" test de Ames). Ces rats ont reçu par injection intrapéritonéale 10 ou 50 microsphères (800-900 microns de diamètre) contenant chacune 200 000 cellules de la lignée "test". Ces 15 microsphères, décrites par Kessler et al. (1992) (voir également la demande de brevet français FR-2,696,755), sont perméables à l'insuline, qui doit pouvoir en sortir, et aux signaux de la GSIS (tels que le glucose), qui doivent pouvoir y entrer. Elles sont imperméables aux agents de 20 rejet par le système immunitaire, mais pas aux glucocorticoïdes. La lignée "test" est la lignée RIN 1046-38 obtenue à partir d'un insulinome de rat et cultivée selon Clark et al. (1990). Des transfectants stables soit 25 de HNF-6 soit de OC-2 sont obtenus en électroporant les cellules RIN 1046-38 avec un vecteur plasmidique comportant une origine de réPLICATION bactérienne, un gène de résistance à l'ampicilline, l'ADN complémentaire de OC-2 ou de HNF-6 sous le contrôle du promoteur/"enhancer" du cytomégavirus et un ADN complémentaire codant la 30 néomycine phosphotransférase. L'ADN complémentaire codant la néomycine phosphotransférase est cloné en 3' d'un "internal ribosome entry site", lui-même situé en 3' de l'ADN complémentaire de HNF-6 ou OC-2, de sorte que le

WO 00/11159

16

promoteur du cytomégalovirus contrôle la synthèse d'un seul ARN bicistronique codant à la fois HNF-6 ou OC-2 et la néomycine phosphotransférase. Un signal de polydénylation, dérivé du virus SV40 et localisé en 3' de l'ADN 5 complémentaire codant la néomycine phosphotransférase, assure la polydénylation de l'ARN bicistronique. Après transfection des cellules RIN 1046-38 selon Clark et al. (1997) les transfectants stables sont sélectionnés par un traitement à la Généticine (500ug/ml) pendant deux 10 semaines.

Ce procédé est transposable à l'humain insulino-dépendant (diabète de type I ou de Type II décompensé) comme décrit dans Aebischer et al. (1999).

WO 00/11159

REFERENCES

Aebischer, O. et al., *Nature Medicine* 5, p. 852 (1999)
Carreira, S. et al., *Mol. Cell. Biol.* 18, pp. 5099-5108
5 (1998)

Clark, S.A. et al., *Endocrinology* 127, pp. 2779-2788 (1990)
Clark, S.A. et al., *Diabetes* 46, pp. 958-967 (1997)
Hohmeier, H-E. et al., *J. Clin. Invest.* 101, pp. 1811-1820
10 (1998)

Jacquemin et al., *J. Biol. Chem.* 272, pp. 12928-12937
15 (1997)

Jacquemin et al., *J. Biol. Chem.* 274, pp. 2665-2671 (1999)
Kahn, B.B., *Cell* 92, pp. 593-596 (1998)

Kessler, L. et al., *Biomaterials* 13, pp. 44-49 (1992)
20

Landry, C. et al., *Dev. Biol.* 192, pp. 247-257 (1997)

Lannoy, V.J. et al., *J. Biol. Chem.* 273, pp. 13552-13562
25 (1998)

Lemaigre, F.P. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, pp.
9460-9464 (1996)

Newgard, C.B. et al., *Diabetologia* 40, pp. S42-S47 (1997)
30

Opdecamp, K. et al., *Development* 124, pp. 2377-2386 (1997)

WO 00/11159

18

Pierreux, C.E., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 96,
pp. 8961-8966 (1999)

Rausa, F. et al., *Dev. Biol.* 192, pp. 228-246 (1997)

5 Samadani, U. & Costa, R.H., *Mol. Cell. Biol.* 16, pp. 6273-
6284 (1996)

Tachibana, M. et al., *Human Mol. Genet.* 3, pp.553-557

10 (1994)

Tachibana, M. et al., *Nature Genet.* 14, pp. 50-54 (1996)

Tassabehji, M. et al., *Nature* 355, pp. 635-636 (1992)

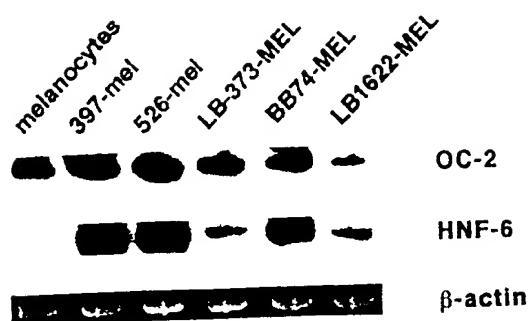
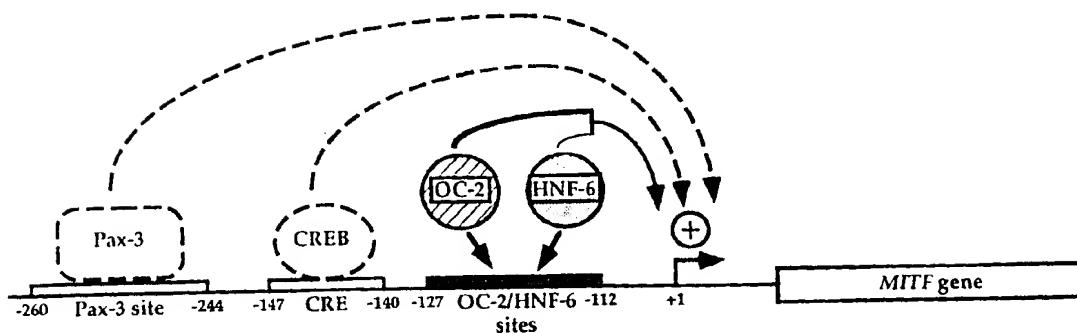
15

REVENDICATIONS

1. Composition pharmaceutique comprenant un véhicule pharmaceutique adéquat et un élément choisi parmi le groupe constitué par une séquence nucléotidique codant 5 un peptide de la famille ONECUT, un vecteur comprenant cette séquence nucléotidique, la séquence polypeptidique codée par cette séquence nucléotidique et/ou une lignée cellulaire transformée par ledit vecteur et exprimant le peptide de la famille ONECUT.
- 10 2. Composition pharmaceutique selon la revendication 1, caractérisée en ce que le peptide de la famille est le HNF-6.
- 15 3. Composition pharmaceutique selon la revendication 1, caractérisée en ce que le peptide de la famille est le OC-2.
4. Composition pharmaceutique cellulaire selon la revendication 1, caractérisée en ce que le peptide de la famille est le OC-3.
- 20 5. Composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que lesdites séquences nucléotidique et polypeptidique sont des séquences nucléotidique et polypeptidique humaines.
- 25 6. Composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que le vecteur est choisi parmi le groupe constitué par les plasmides, les virus, les phagémides, les vésicules lipidiques, en particulier les vésicules cationiques, les liposomes ou un mélange d'entre eux.
- 30 7. Utilisation de la composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications précédentes pour la préparation d'un médicament destiné à la prévention et/ou au traitement du diabète de type 1 ou de type 2 ou des affections liées au diabète, à la

prévention et/ou au traitement du cancer en particulier du mélanome, et à la prévention et au traitement du syndrome de Waardenburg.

8. Procédé de traitement thérapeutique d'un patient, de préférence d'un patient humain, susceptible de développer ou souffrant d'un diabète, d'un cancer, en particulier d'un mélanome, ou du syndrome de Waardenburg, caractérisé en ce que l'on administre ex vivo la composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 1 à 4 en isolant un fluide corporel ou une ou plusieurs cellules du patient, en traitant lesdites cellules ou les cellules présentes dans ce fluide corporel par la composition pharmaceutique de l'invention ou par le vecteur compris dans cette composition pharmaceutique et en réinjectant audit patient les cellules transformées.

FIG.1FIG.2

WO 00/11159

1

LISTE DE SEQUENCES

<110> UNIVERSITE CATHOLIQUE DE LOUVAIN

<120> COMPOSITION PHARMACEUTIQUE DESTINEE AU TRAITEMENT OU LA PREVENTION DU DIABETE OU DU CANCER

<130> P.UCL.64/WO

<140>

<141>

<160> 4

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 1655

<212> ADN

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (89)..(1543)

<400> 1
gccccccggccc gccccgggcc ctgtatggact gaatgaaggc tgcctacacc gcctatcgat 60gcctcaccaa agacctagaa cgtgcgcc atg aac ccg gag ctg aca atg gaa 112
Met Asn Pro Glu Leu Thr Met Glu
1 5agt ctg ggc act ttg cac ggc gcg cgc ggc ggc agt ggc ggg ggc 160
Ser Leu Gly Thr Leu His Gly Ala Arg Gly Gly Ser Gly Gly Gly
10 15 20ggc ggc ggg ggc ggg ggc ggc ggg ggc ccg ggc cat gag cag 208
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Pro Gly His Glu Gln
25 30 35 40gag ctg ctg gcc agc ccc cac cac ggc cgc cgc ggc ccg cgt 256
Glu Leu Leu Ala Ser Pro Ser Pro His His Ala Arg Arg Gly Pro Arg
45 50 55ggc tcg ctg cgg ggc cct ccg cct cca acc ggc cac cag gag ctg 304
Gly Ser Leu Arg Gly Pro Pro Pro Pro Thr Ala His Gln Glu Leu
60 65 70ggc acg gcg gca gcg gca gcg gcg tcg cgc tcg gcc atg gtc 352
Gly Thr Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ser Arg Ser Ala Met Val
75 80 85acc agc atg gcc tcg atc ctg gac ggc gac tac cgg ccc gag ctc 400
Thr Ser Met Ala Ser Ile Leu Asp Gly Gly Asp Tyr Arg Pro Glu Leu
90 95 100tcc atc ccg ctg cac cac gcc atg agc atg tcc tgc gac tac tct ccg 448
Ser Ile Pro Leu His His Ala Met Ser Met Cys Asp Ser Ser Pro
105 110 115 120

cct ggc atg ggc atg agc aac acc tac acc acg ctg aca ccg ctc cag 496

WO 00/11159

2

Pro Gly Met Gly Met Ser Asn Thr Tyr Thr Thr Leu Thr Pro Leu Gln
 125 130 135

ccg ctg cca ccc atc tcc acc gtg tct gac aag ttc cac cac cct cac
 Pro Leu Pro Pro Ile Ser Thr Val Ser Asp Lys Phe His His Pro His
 140 145 150

ccg cac cac cat ccg cac cac cac cac cac cac cag cgc ctg
 Pro His His His Pro His His His His His His His His Gln Arg Leu
 155 160 165

tcc ggc aac gtc agc ggc agc ttc acc ctc atg cgc gac gag cgc ggg
 Ser Gly Asn Val Ser Gly Ser Phe Thr Leu Met Arg Asp Glu Arg Gly
 170 175 180

ctc ccg gcc atq aac aac ctc tac agt ccc tac aag gag atg ccc ggc
 Leu Pro Ala Met Asn Asn Leu Tyr Ser Pro Tyr Lys Glu Met Pro Gly
 185 190 195

atg agc cag agc ctg tcc ccg ctg gcc acg ccg ctg ggc aac ggg
 Met Ser Gln Ser Leu Ser Pro Leu Ala Ala Thr Pro Leu Gly Asn Gly
 205 210 215

cta ggc ggc ctc cac aac gcg cag cag agt ctg ccc aac tac ggt ccg
 Leu Gly Gly Leu His Asn Ala Gln Gln Ser Leu Pro Asn Tyr Gly Pro
 220 225 230

ccg ggc cac gac aaa atg ctc agc ccc aac ttc gac ggc cac cac act
 Pro Gly His Asp Lys Met Leu Ser Pro Asn Phe Asp Ala His His Thr
 235 240 245

gcc atg ctg acc cgc ggt gag caa cac ctg tcc cgc ggc ctg ggc acc
 Ala Met Leu Thr Arg Gly Glu Gln His Leu Ser Arg Gly Leu Gly Thr
 250 255 260

cca cct gcg gcc atg atg tcg cac ctg aac ggc ctg cac cac ccg ggc
 Pro Pro Ala Ala Met Met Ser His Leu Asn Gly Leu His His Pro Gly
 265 270 275

cac act cag tct cac ggg ccg gtg ctg gca ccc agt cgc gag cgg cca
 His Thr Gln Ser His Gly Pro Val Leu Ala Pro Ser Arg Glu Arg Pro
 285 290 295

ccc tcg tcc tca tcg ggc tcg cag gtg gcc acg tcg ggc cag ctg gaa
 Pro Ser Ser Ser Gly Ser Gln Val Ala Thr Ser Gly Gln Leu Glu
 300 305 310

gaa atc aac acc aaa gag gtg gcc cag cgc atc aca gcg gaa ctg aag
 Glu Ile Asn Thr Lys Glu Val Ala Gln Arg Ile Thr Ala Glu Leu Lys
 315 320 325

ccg tac agt atc ccc cag gcg atc ttt ggc cag agg gtg ctg tgc cgg
 Arg Tyr Ser Ile Pro Gln Ala Ile Phe Ala Gln Arg Val Leu Cys Arg
 330 335 340

tct cag ggg act ctc tcc gac ctg ctc cgg aat cca aaa ccg tgg agt
 Ser Gln Gly Thr Leu Ser Asp Leu Leu Arg Asn Pro Lys Pro Trp Ser
 345 350 355

aaa ctc aaa tct ggc agg gag acc ttc cgc agg atg tgg aag tgg ctt
 Lys Leu Lys Ser Gly Arg Glu Thr Phe Arg Arg Met Trp Lys Trp Leu

WO 00/11159

3

365	370	375	
cag gag ccc gag ttc cag cgc atg tcc gcc tta cgc ctg gca gcg tgc Gln Glu Pro Glu Phe Gln Arg Met Ser Ala Leu Arg Leu Ala Ala Cys 380 385 390			1264
aaa cgc aaa gag caa gaa cca aac aaa gac agg aac aat tcc cag aag Lys Arg Lys Glu Gln Glu Pro Asn Lys Asp Arg Asn Ser Gln Lys 395 400 405			1312
aag tcc cgc ctg gtg ttc act gac ctc caa cgc cga aca ctc ttc gcc Lys Ser Arg Leu Val Phe Thr Asp Leu Gln Arg Arg Thr Leu Phe Ala 410 415 420			1360
atc ttc aag gag aac aaa cgc ccg tca aag gag atg cag atc acc att Ile Phe Lys Glu Asn Lys Arg Pro Ser Lys Glu Met Gln Ile Thr Ile 425 430 435 440			1408
tcc cag cag ctg ggc ctg gag ctc aca acc gtc agc aac ttc ttc atg Ser Gln Gln Leu Gly Leu Glu Leu Thr Thr Val Ser Asn Phe Phe Met 445 450 455			1456
aac gcc cgg cgc cgc agc ctg gag aag tgg caa gac gat ctg agc aca Asn Ala Arg Arg Ser Leu Glu Lys Trp Gln Asp Asp Leu Ser Thr 460 465 470			1504
ggg ggc tcc tcg tcc acc tcc agc acg tgt acc aaa gca tgatggagg Gly Gly Ser Ser Ser Thr Ser Thr Cys Thr Lys Ala 475 480 485			1553
actctcactt gggcacaagt cacctccaaa tgaggacaac agataccaaa agaaaaacaaa ggaaaaagac accggattcc tagctggggc cttcactgg tg			1613
			1655

<210> 2
<211> 485
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 2	Met Asn Pro Glu Leu Thr Met Glu Ser Leu Gly Thr Leu His Gly Ala	15
1	5	10
Arg Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly		
20	25	30
Gly Gly Gly Pro Gly His Glu Gln Glu Leu Leu Ala Ser Pro Pro		
35	40	45
His His Ala Arg Arg Gly Pro Arg Gly Ser Leu Arg Gly Pro Pro Pro		
50	55	60
Pro Pro Thr Ala His Gln Glu Leu Gly Thr Ala Ala Ala Ala Ala		
65	70	75 80
Ala Ala Ser Arg Ser Ala Met Val Thr Ser Met Ala Ser Ile Leu Asp		
85	90	95
Gly Gly Asp Tyr Arg Pro Glu Leu Ser Ile Pro Leu His His Ala Met		
100	105	110

WO 00/11159

4

Ser Met Ser Cys Asp Ser Ser Pro Pro Gly Met Ser Asn Thr
 115 120 125
 Tyr Thr Thr Leu Thr Pro Leu Gln Pro Leu Pro Pro Ile Ser Thr Val
 130 135 140
 Ser Asp Lys Phe His His Pro His His His Pro His His His
 145 150 155 160
 His His His His Gln Arg Leu Ser Gly Asn Val Ser Gly Ser Phe
 165 170 175
 Thr Leu Met Arg Asp Glu Arg Gly Leu Pro Ala Met Asn Asn Leu Tyr
 180 185 190
 Ser Pro Tyr Lys Glu Met Pro Gly Met Ser Gln Ser Leu Ser Pro Leu
 195 200 205
 Ala Ala Thr Pro Leu Gly Asn Gly Leu Gly Leu His Asn Ala Gln
 210 215 220
 Gln Ser Leu Pro Asn Tyr Gly Pro Pro Gly His Asp Lys Met Leu Ser
 225 230 235 240
 Pro Asn Phe Asp Ala His His Thr Ala Met Leu Thr Arg Gly Glu Gln
 245 250 255
 His Leu Ser Arg Gly Leu Gly Thr Pro Pro Ala Ala Met Met Ser His
 260 265 270
 Leu Asn Gly Leu His His Pro Gly His Thr Gln Ser His Gly Pro Val
 275 280 285
 Leu Ala Pro Ser Arg Glu Arg Pro Pro Ser Ser Ser Gly Ser Gln
 290 295 300
 Val Ala Thr Ser Gly Gln Leu Glu Glu Ile Asn Thr Lys Glu Val Ala
 305 310 315 320
 Gln Arg Ile Thr Ala Glu Leu Lys Arg Tyr Ser Ile Pro Gln Ala Ile
 325 330 335
 Phe Ala Gln Arg Val Leu Cys Arg Ser Gln Gly Thr Leu Ser Asp Leu
 340 345 350
 Leu Arg Asn Pro Lys Pro Trp Ser Lys Leu Lys Ser Gly Arg Glu Thr
 355 360 365
 Phe Arg Arg Met Trp Lys Trp Leu Gln Glu Pro Glu Phe Gln Arg Met
 370 375 380
 Ser Ala Leu Arg Leu Ala Ala Cys Lys Arg Lys Glu Gln Glu Pro Asn
 385 390 395 400
 Lys Asp Arg Asn Asn Ser Gln Lys Lys Ser Arg Leu Val Phe Thr Asp
 405 410 415
 Leu Gln Arg Arg Thr Leu Phe Ala Ile Phe Lys Glu Asn Lys Arg Pro
 420 425 430

WO 00/11159

5

Ser Lys Glu Met Gln Ile Thr Ile Ser Gln Gln Leu Gly Leu Glu Leu
 435 440 445
 Thr Thr Val Ser Asn Phe Phe Met Asn Ala Arg Arg Arg Ser Leu Glu
 450 455 460
 Lys Trp Gln Asp Asp Leu Ser Thr Gly Gly Ser Ser Ser Thr Ser Ser
 465 470 475 480
 Thr Cys Thr Lys Ala
 485

<210> 3
 <211> 1485
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1485)

<400> 3 48
 atg gag ctg agc ctg gag agc ctg ggg ggc ctg cac agc gtg gcc cac
 Met Glu Leu Ser Leu Glu Ser Leu Gly Gly Leu His Ser Val Ala His
 5 10 15
 gcg cag ggc gag ctg ctg agc ccg ggc cac gcg cgc tcg gcg gcg 96
 Ala Gln Ala Gly Glu Leu Leu Ser Pro Gly His Ala Arg Ser Ala Ala
 20 25 30
 gcg cag cac cgc ggc ctg gtg gcg ccc ggg cgc ccg ggc ctg gtg gcc 144
 Ala Gln His Arg Gly Leu Val Ala Pro Gly Arg Pro Gly Leu Val Ala
 35 40 45
 ggc atg gcg agc ctg ctg gac ggc ggc ggc ggc ggt ggg ggc 192
 Gly Met Ala Ser Leu Leu Asp Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 50 55 60
 gcc ggg ggc ggc ggc ggc agc ggc ggc ggc ggc gac ttc 240
 Ala Gly Gly Ala Gly Gly Ser Ala Gly Gly Ala Asp Phe
 70 75 80
 cgc ggg gaa ctg gcg ggc ccg ctg cac ccg gca atg ggc atg gcc tgc 288
 Arg Gly Glu Leu Ala Gly Pro Leu His Pro Ala Met Gly Met Ala Cys
 85 90 95
 gag gcg ccg ggc ctg ggc acc tac acg acg ctc acg ccc ctg cag 336
 Glu Ala Pro Gly Leu Gly Thr Tyr Thr Leu Thr Pro Leu Gln
 100 105 110
 cac ctg ccg ctc gcg gcc gtg gcc gac aag ttc cac cag cac gcg 384
 His Leu Pro Pro Leu Ala Ala Val Ala Asp Lys Phe His Gln His Ala
 115 120 125
 gcg gcc gcg gcc gtg gcc ggg ggc cat ccc cac gcg cac 432
 Ala Ala Ala Val Ala Gly Ala His Gly Gly His Pro His Ala His
 130 135 140
 ccg cac ccg gcg gcc gcg ccc ccg cca ccc ccc ccg cag cgt ctg 480

WO 00/11159

6

Pro His Pro Ala Ala Ala Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Gln Arg Leu
 145 150 155 160
 gcg gcc agc gtg agc ggc acc ctc atg cgc gac gag cgg gcg
 Ala Ala Ser Val Ser Gly Ser Phe Thr Leu Met Arg Asp Glu Arg Ala
 165 170 175
 gcg ctc gcc tcc gtg ggc cac ctc tac gga ccc tac ggc aag gag ctg
 Ala Leu Ala Ser Val Gly His Leu Tyr Gly Pro Tyr Gly Lys Glu Leu
 180 185 190
 ccc gcc atg ggg tcg ccg ctg tcg ccc aac gcg ctg ccc ccc
 Pro Ala Met Gly Ser Pro Leu Ser Pro Leu Pro Asn Ala Leu Pro Pro
 195 200
 qcq ctg cac ggc gcc ccg ccc ccg ccg cca cca ccc ccg ccg
 Ala Leu His Gly Ala Pro Gln Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro
 210 215 220
 ctg gcc tac ggc ccg cca ggc cac ctg qct ggg qac aag ctg ctg
 Leu Ala Ala Tyr Gly Pro Pro Gly His Leu Ala Gly Asp Lys Leu Leu
 225 230 235 240
 ccg ccc gcc ttc gag ccg cac gcc gcg ctg gga cgc gag
 Pro Pro Ala Ala Phe Glu Pro His Ala Ala Leu Leu Gly Arg Ala Glu
 245 250 255
 gac gca ctg gcc cgc ggg ctg ccc gga ggc ggc ggc aca ggc agc
 Asp Ala Leu Ala Arg Gly Leu Pro Gly Gly Gly Gly Ser
 260 265 270
 ggc gga gcg ggc agc ggg agc gcc gcg ggg ctg ctg gcg ccg ctg ggc
 Gly Gly Ala Gly Ser Gly Ala Ala Gly Leu Leu Ala Pro Leu Gly
 275 280 285
 ggg ctg gcg ggc ggg gcg cac ggg ccg cac ggg gga ggc ggc ggc
 Gly Leu Ala Ala Ala Gly Ala His Gly Pro His Gly Gly Gly Gly
 290 295 300
 ccc ggc ggg agc ggc ggc ccc agc gcg ggc gca gcg ggc gag gag
 Pro Gly Gly Ser Gly Gly Pro Ser Ala Gly Ala Ala Ala Glu Glu
 305 310 315 320
 atc aac acc aag gag gtg gcg cag cgc atc acg gcg gag ctg aag cgc
 Ile Asn Thr Lys Glu Val Ala Gln Arg Ile Thr Ala Glu Leu Lys Arg
 325 330 335
 tac agc atc ccg cag gca atc ttc gcg cag ccg atc ctg tgt cgc tct
 Tyr Ser Ile Pro Gln Ala Ile Phe Ala Gln Arg Ile Leu Cys Arg Ser
 340 345 350
 cag ggc acg ctc tcc gac ctg ctg cgc aac ccc aag ccg tgg aag cag
 Gln Gly Thr Leu Ser Asp Leu Leu Arg Asn Pro Lys Pro Trp Ser Lys
 355 360 365
 ctc aaa tcc ggc cgc gag acc ttc cgc agg atg tgg aag tgg ctg cag
 Leu Lys Ser Gly Arg Glu Thr Phe Arg Arg Met Trp Lys Trp Leu Gln
 370 375 380
 gag cca gag ttc cag cgc atg tcg gcg ctg cgc ttg gca gcg tgc aag
 Glu Pro Glu Phe Gln Arg Met Ser Ala Leu Arg Leu Ala Ala Cys Lys
 1200

WO 00/11159

7

385	390	395	400	
				1248
				415
				420
				425
				430
				435
				440
				445
				450
				455
				460
				465
				470
				475
				480
				485
				490
				495
				500

cgc aag gaa cag gag cag caq aag gag cgc gcc ctg cag ccc aag aag
 Arg Lys Glu Gln Glu Gln Gln Lys Glu Arg Ala Leu Gln Pro Lys Lys
 405 410 415

cag cgc ctg gtg ttc acc gac ctg cag cga cgc acg ctg atc gcc atc
 Gln Arg Leu Val Phe Thr Asp Leu Gin Arg Arg Thr Leu Ile Ala Ile
 420 425 430

ttc aag gag aac aag cgg ccg tcc aag gag atg cag gtc acc atc tcg
 Phe Lys Glu Asn Lys Arg Pro Ser Lys Glu Met Gln Val Thr Ile Ser
 435 440 445

cag cag ctc ggc ttg gag ctc aac acc gtc acg aac ttc ttc atg aac
 Gln Gln Leu Gly Leu Glu Leu Asn Thr Val Ser Asn Phe Phe Met Asn
 450 455 460

qcq cgg cgc cgc tgc atg aac cgc tgg gct qag gag ccc acg acg gcc
 Ala Arg Arg Arg Cys Met Asn Arg Trp Ala Glu Glu Pro Ser Thr Ala
 465 470 475

ccc ggg ggc ccc qgc qcc acg gcc act ttc tcc aag gcc tga
 Pro Gly Gly Pro Ala Gly Ala Thr Phe Ser Lys Ala
 485 490 495

<210> 4
 <211> 494
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 4
 Met Glu Leu Ser Leu Glu Ser Leu Gly Gly Leu His Ser Val Ala His
 1 5 10 15
 Ala Gln Ala Gly Glu Leu Leu Ser Pro Gly His Ala Arg Ser Ala Ala
 20 25 30
 Ala Gln His Arg Gly Leu Val Ala Pro Gly Arg Pro Gly Leu Val Ala
 35 40 45
 Gly Met Ala Ser Leu Leu Asp Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 50 55 60
 Ala Gly Gly Ala Gly Gly Ser Ala Gly Gly Ala Asp Phe
 65 70 75 80
 Arg Gly Glu Leu Ala Gly Pro Leu His Pro Ala Met Gly Met Ala Cys
 85 90 95
 Glu Ala Pro Gly Leu Gly Gly Thr Tyr Thr Leu Thr Pro Leu Gln
 100 105 110
 His Leu Pro Pro Leu Ala Ala Val Ala Asp Lys Phe His Gln His Ala
 115 120 125
 Ala Ala Ala Ala Val Ala Gly Ala His Gly His Pro His Ala His
 130 135 140
 Pro His Pro Ala Ala Ala Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Gln Arg Leu

WO 00/11159

8

145	150	155	160
Ala Ala Ser Val Ser Gly Ser Phe Thr Leu Met Arg Asp Glu Arg Ala			
165	170	175	
Ala Leu Ala Ser Val Gly His Leu Tyr Gly Pro Tyr Gly Lys Glu Leu			
180	185	190	
Pro Ala Met Gly Ser Pro Leu Ser Pro Leu Pro Asn Ala Leu Pro Pro			
195	200	205	
Ala Leu His Gly Ala Pro Gln Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro			
210	215	220	
Leu Ala Ala Tyr Gly Pro Pro Gly His Leu Ala Gly Asp Lys Leu Leu			
225	230	235	240
Pro Pro Ala Ala Phe Glu Pro His Ala Ala Leu Leu Gly Arg Ala Glu			
245	250	255	
Asp Ala Leu Ala Arg Gly Leu Pro Gly Gly Gly Gly Thr Gly Ser			
260	265	270	
Gly Gly Ala Gly Ser Gly Ala Ala Gly Leu Leu Ala Pro Leu Gly			
275	280	285	
Gly Leu Ala Ala Ala Gly Ala His Gly Pro His Gly Gly Gly Gly			
290	295	300	
Pro Gly Gly Ser Gly Gly Pro Ser Ala Gly Ala Ala Ala Glu Glu			
305	310	315	320
Ile Asn Thr Lys Glu Val Ala Gln Arg Ile Thr Ala Glu Leu Lys Arg			
325	330	335	
Tyr Ser Ile Pro Gln Ala Ile Phe Ala Gln Arg Ile Leu Cys Arg Ser			
340	345	350	
Gln Gly Thr Leu Ser Asp Leu Leu Arg Asn Pro Lys Pro Trp Ser Lys			
355	360	365	
Leu Lys Ser Gly Arg Glu Thr Phe Arg Arg Met Trp Lys Trp Leu Gln			
370	375	380	
Glu Pro Glu Phe Gln Arg Met Ser Ala Leu Arg Leu Ala Ala Cys Lys			
385	390	395	400
Arg Lys Glu Gln Glu Gln Gln Lys Glu Arg Ala Leu Gln Pro Lys Lys			
405	410	415	
Gln Arg Leu Val Phe Thr Asp Leu Gln Arg Arg Thr Leu Ile Ala Ile			
420	425	430	
Phe Lys Glu Asn Lys Arg Pro Ser Lys Glu Met Gln Val Thr Ile Ser			
435	440	445	
Gln Gln Leu Gly Leu Glu Leu Asn Thr Val Ser Asn Phe Phe Met Asn			
450	455	460	
Ala Arg Arg Arg Cys Met Asn Arg Trp Ala Glu Glu Pro Ser Thr Ala			
465	470	475	480

Pro Gly Gly Pro Ala Gly Ala Thr Ala Thr Phe Ser Lys Ala
485 490